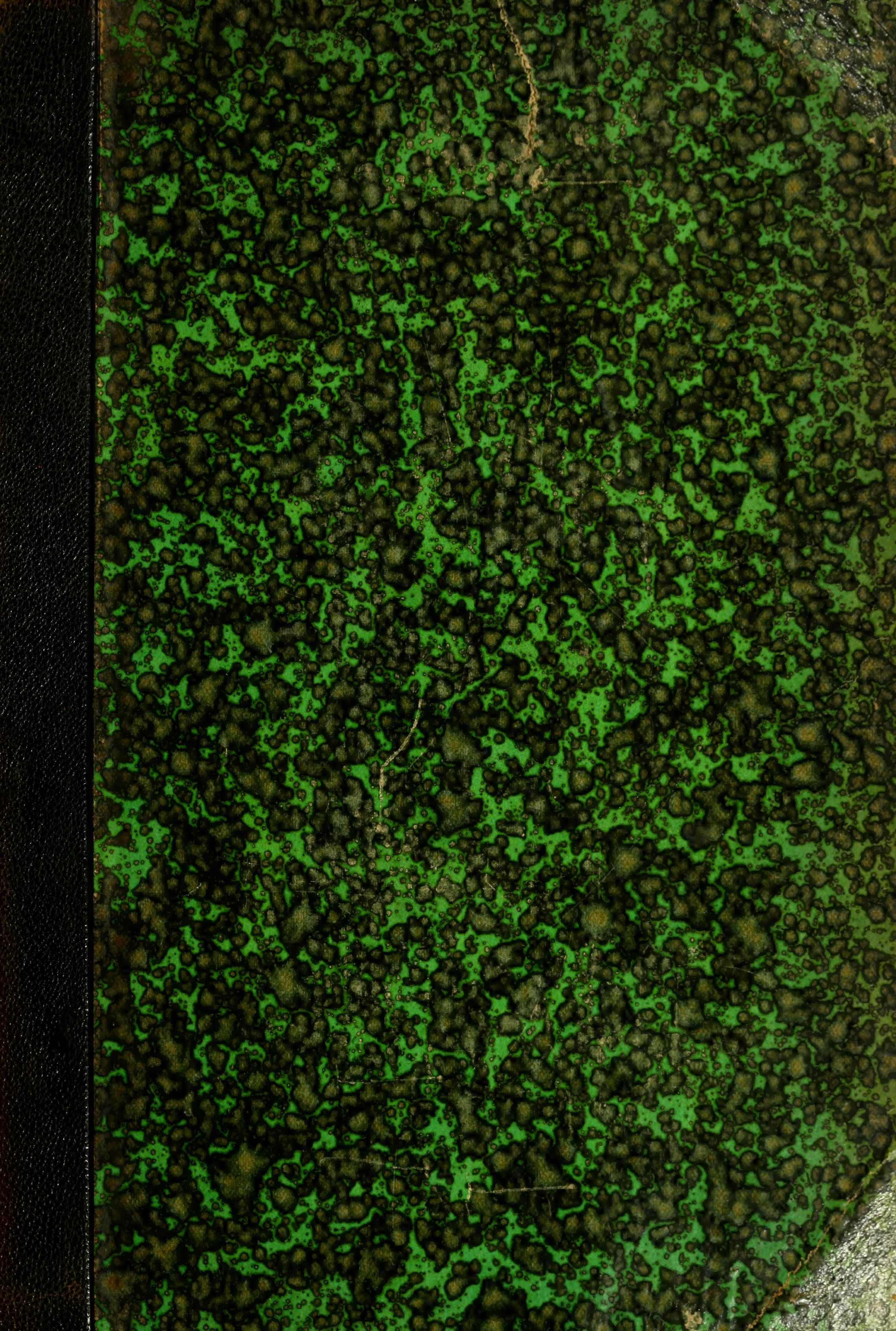
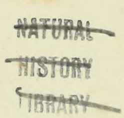
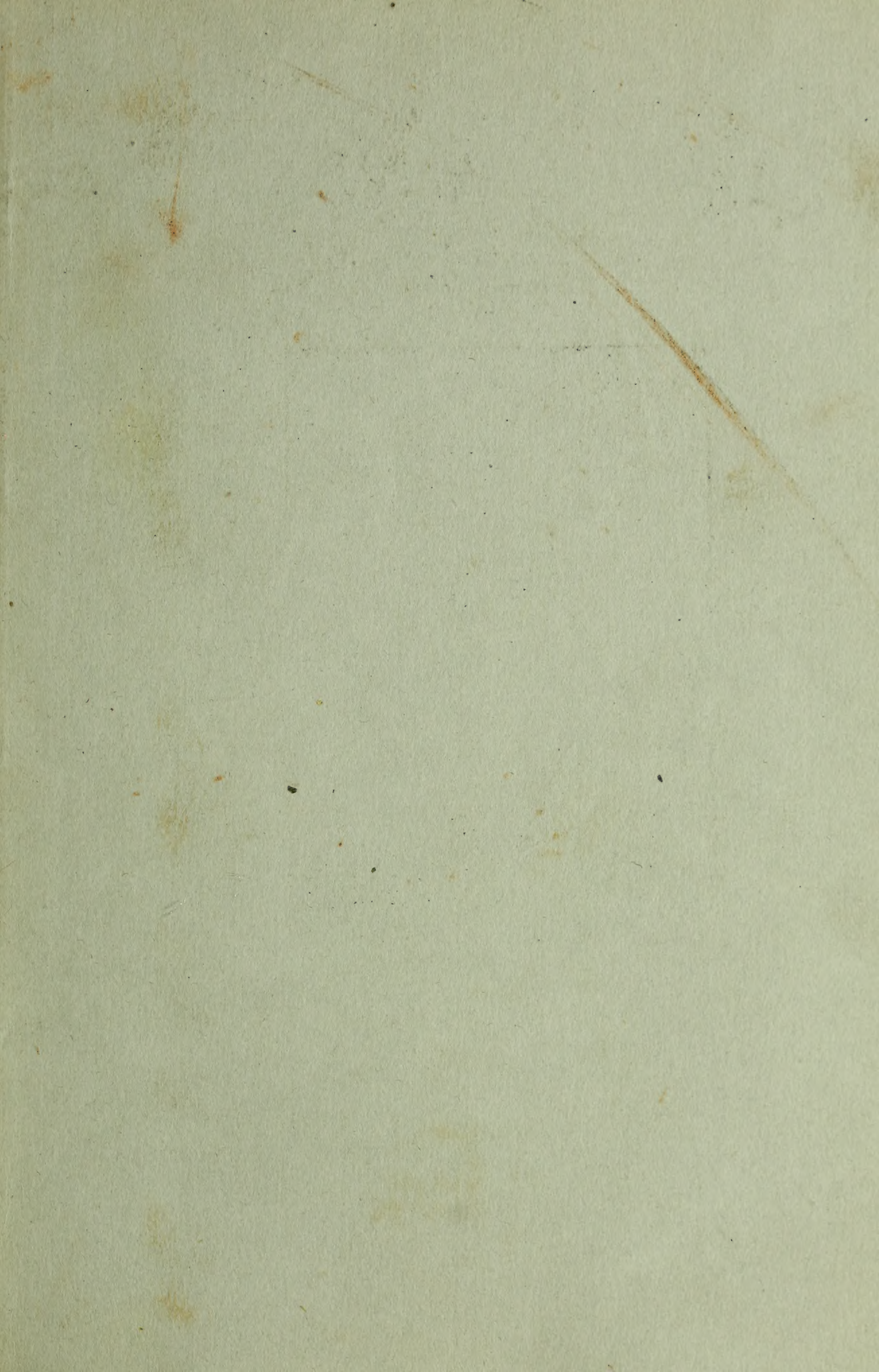
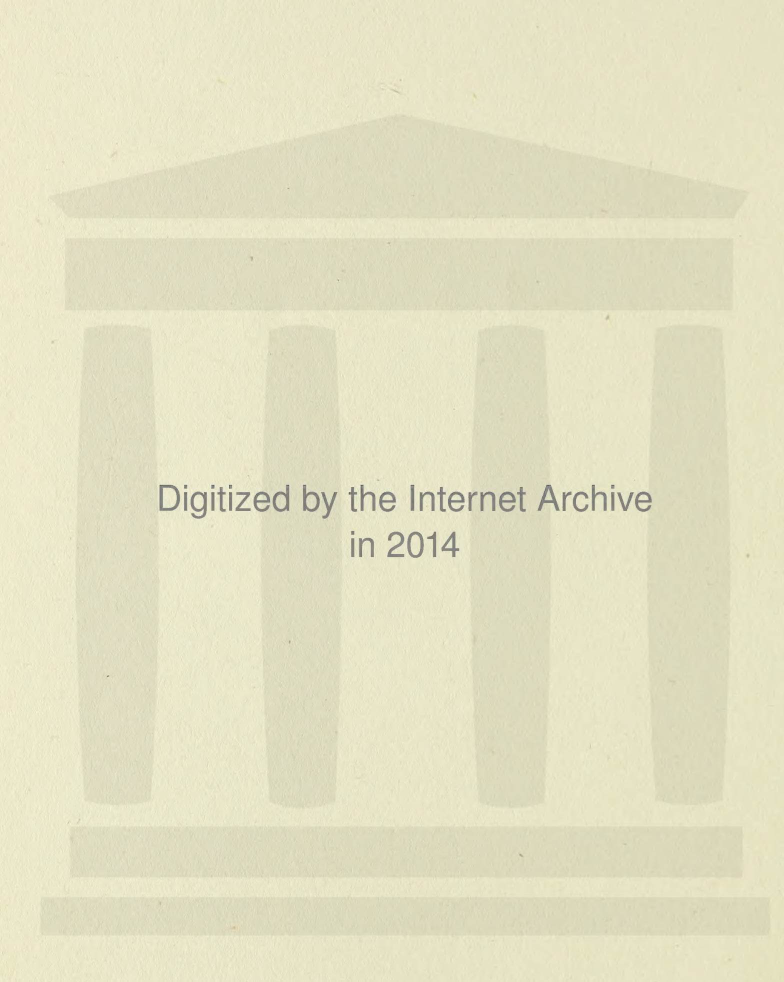
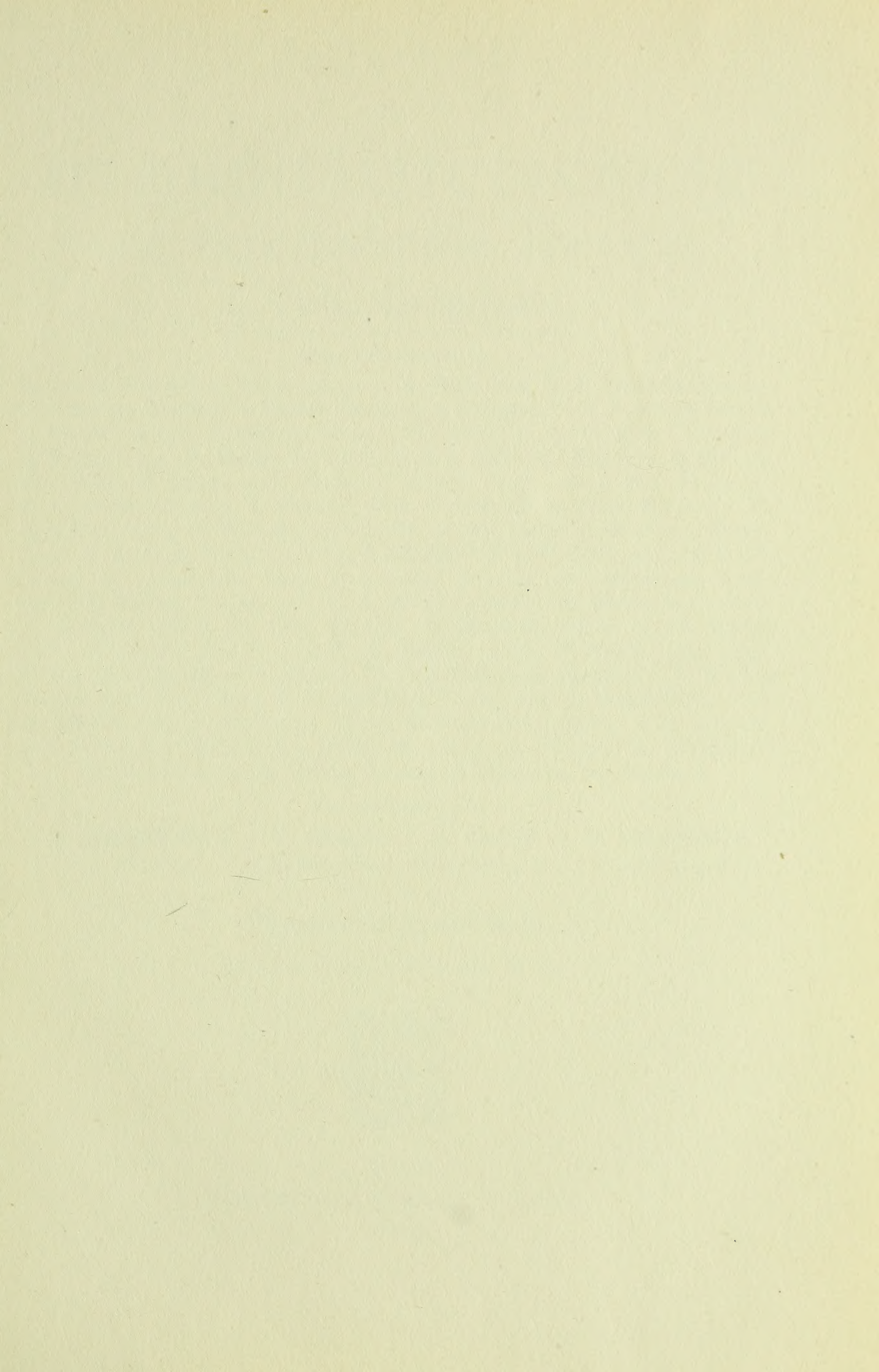
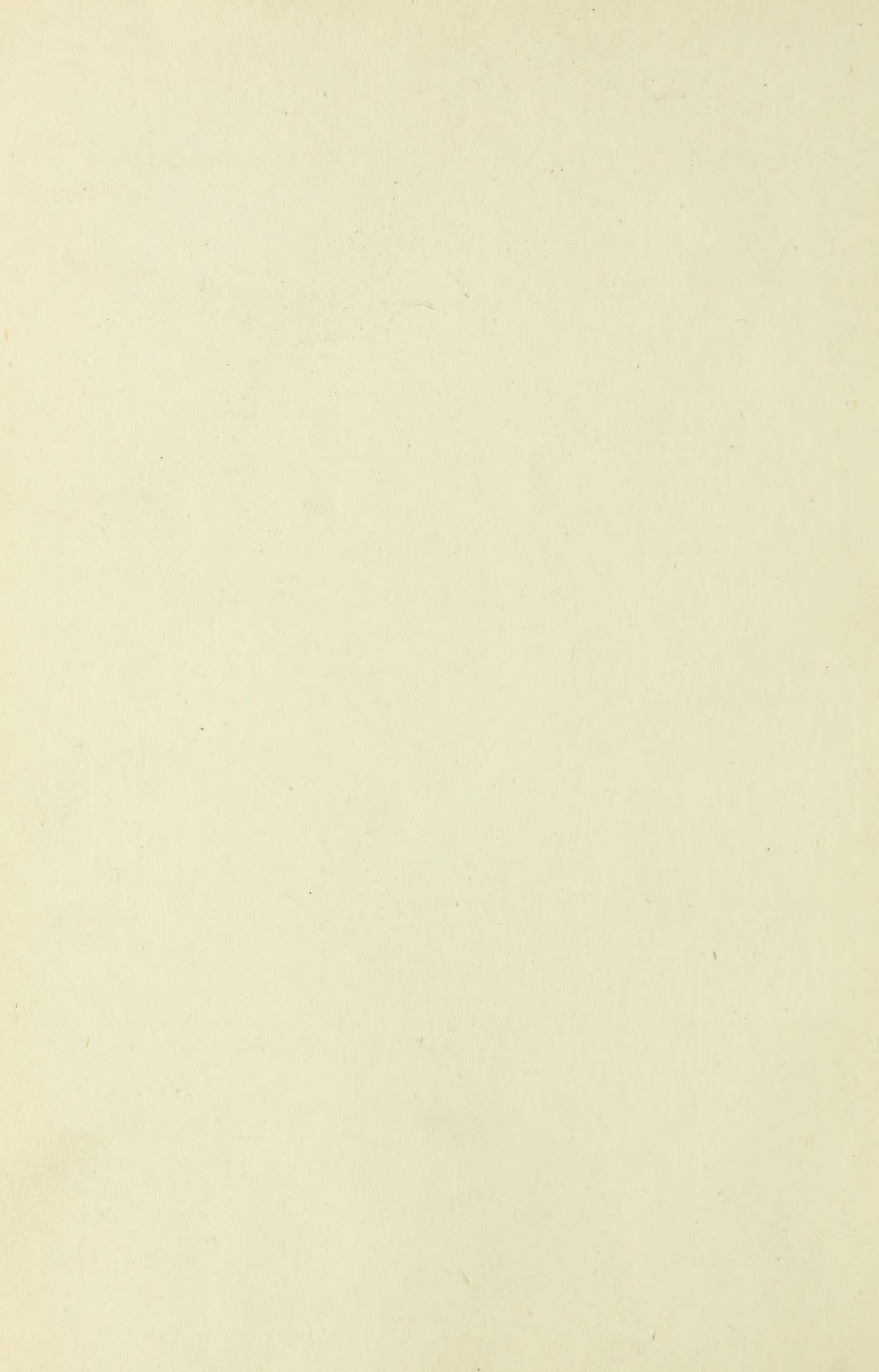












Zeitschrift
für
Immunitätsforschung
und experimentelle Therapie
I. Teil: Originale

unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, **V. Babes,** Bukarest, **O. Bail,** Prag, **E. F. Bashford,** London, **E. v. Behring,** Marburg, **S. Belfanti,** Mailand, **A. Besredka,** Paris, **J. Bordet,** Brüssel, **A. Breinl,** Liverpool, **L. Brieger,** Berlin, **A. Calmette,** Lille, **A. Dieudonné,** München, **R. Doerr,** Wien, **M. Dorset,** Washington, **E. v. Dungern,** Hamburg, **S. Flexner,** New York, **U. Friedemann,** Berlin, **P. Frosch,** Berlin, **G. Gaffky,** Hannover, **M. v. Gruber,** München, **L. Haendel,** Berlin-Lichterfelde, **M. Hahn,** Freiburg i. B., **A. Heffter,** Berlin, **L. Hektoen,** Chicago, **M. Jacoby,** Berlin, **C. O. Jensen,** Kopenhagen, **K. Kisskalt,** Königsberg i. Pr., **S. Kitasato,** Tokio, **W. Kolle,** Bern, **W. Kruse,** Leipzig, **K. Landsteiner,** Wien, **C. Levaditi,** Paris, **L. von Liebermann,** Budapest, **Th. Madsen,** Kopenhagen, **C. J. Martin,** London, **E. Metschnikoff,** Paris, **L. Michaelis,** Berlin, **R. Muir,** Glasgow, **C. Moreschi,** Pavia, **P. Th. Müller,** Graz, **M. Neisser,** Frankfurt a. M., **F. Neufeld,** Berlin, **F. Nuttall,** Cambridge, **R. von Ostertag,** Berlin, **R. Paltauf,** Wien, **A. Pettersson,** Stockholm, **R. Pfeiffer,** Breslau, **E. P. Pick,** Wien, **C. J. Salomonsen,** Kopenhagen, **A. Schattenfroh,** Wien, **Cl. Schilling,** Berlin, **Th. Smith,** Boston, **G. Sobernheim,** Berlin, **V. C. Vaughan,** Ann Arbor, **A. v. Wassermann,** Berlin, **W. Weichardt,** Erlangen, **A. Wladimiroff,** St. Petersburg, **A. E. Wright,** London, **D. Zabolotny,** St. Petersburg

herausgegeben von

E. FRIEDBERGER (Greifswald.) **R. KRAUS** (Buenos Aires.) **H. SACHS** (Frankfurt a. M.) **P. UHLENHUTH** (Straßburg i. E.)

Vierundzwanzigster Band

Mit 5 Figuren und 14 Kurven im Text



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1916

Inhaltsverzeichnis.

Heft 3. (Ausgegeben am 23. November 1915.)

Heft 4. (Ausgegeben am 4. März 1916.)

Heft 5. (Ausgegeben am 18 April 1916.)

Heft 6. (Ausgegeben am 8. Juni 1916.)

Autorenverzeichnis.



Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XXIV. No. 1.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Uhlenhuth) und der Frauenklinik (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Fehling) der Universität Straßburg.]

Zur Frage der Anaphylaxie durch Sensibilisierung von der Vagina aus.

Von Privatdozent Dr. **A. Hamm**.

(Die Experimente wurden ausgeführt mit Unterstützung der H. v. Recklinghausen-Stiftung.)

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Juli 1914.)

Die Bestimmung der Vagina als Kopulationsorgan läßt eine nennenswerte Resorptionsfähigkeit der Scheidenschleimhaut von vornherein nicht vermuten. Wissen wir doch seit der exakten morphologischen Analyse des Spermas, daß nicht etwa die Resorption der Samenflüssigkeit als solcher die Konzeption bedingt, sondern daß einzig und allein das Vordringen der mit Eigenbewegung begabten Samenfäden auf dem präformierten Wege des Uterus und der Tuben zu jener Vereinigung von männlicher und weiblicher Keimzelle führt, die für das Entstehen eines neuen Individuums ausschlaggebend ist.

Indessen war andererseits seit langem bekannt, daß der Vaginalschleimhaut ein gewisses Resorptionsvermögen eigen sein muß, da nach der Einführung differenter Chemikalien in die Vagina allgemeine Vergiftungserscheinungen beobachtet wurden. So berichten Haberda[1]), Brisken[2]), Justow[3]) über Arsenikvergiftung von der Scheide aus, G. Braun[4]),

1) Haberda, Wien. klin. Wochenschr., Jahrg. 10, 1887, p. 201.
2) Brisken, Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med., Bd. 25, p. 110.
3) Justow, Ref. im Oesterr.-ungar. Centralbl., 1891, No. 5. p. 66.
4) G. Braun, Wien. med. Wochenschr., 1886, p. 21—24.

Fleischmann[1]), v. Herff[2]), J. Menges[3]), Winkler[4]), Röthler[5]) über Sublimatvergiftung, Birnbaum[6]) und Chvojka[7]) über akute Lysolvergiftung, Minich[8]) über Zinksulfatvergiftung nach Scheidenspülungen mit den betreffenden Mitteln oder Einlegen derselben in die Scheide, Schwarz[9]) über Jodoformvergiftung nach Scheidentamponade mit Jodoformgaze.

Die auf Grund derartiger Beobachtungen angestellten systematischen Untersuchungen über die Resorptionsfähigkeit der Scheidenschleimhaut durch Hamburger[10]), Coen und Levi[11]), Higuchi[12]), Leubuscher und Menser[13]), Falk[14]), Czyzewicz[15]) und vor allem durch Menges[16]) haben denn auch eindeutig ergeben, daß die meisten Medikamente, besonders nach deren Lösung in Wasser oder Glyzerin, von der Scheide aus in den Organismus übergehen können, und zwar fanden Coen und Levi das Resorptions-

---

1) Fleischmann, Centralbl. f. Gynäkol., 1886, No. 47, p. 761.

2) v. Herff, Arch. f. Gynäkol., 1886, p. 487.

3) J. Menges, Ueber die Resorption von Arzneistoffen von der Vagina aus. Inaug.-Diss. Berlin 1905. (Sonderabdruck aus der Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap., Bd. 2.)

4) Winkler, Centralbl. f. Gynäkol., 1911, No. 22, p. 825. (Keine Resorption von der Vagina aus.)

5) Röthler, Centralbl. f. Gynäkol., 1911, No. 22, p. 824.

6) Richard Birnbaum, Centralbl. f. Gynäkol., 1909, No. 44, p. 1521—1523.

7) Anton Chvojka, Centralbl. f. Gynäkol., 1910, No. 3, p. 75—76.

8) A. K. Minich, Philad. med. Times, Vol. 2, No. 35, March 1872.

9) E. Schwarz, Berl. klin. Wochenschr., 1885, No. 7.

10) E. W. Hamburger, Vierteljahrsschr. f. d. prakt. Heilk., 1876, Bd. 2, p. 145—150.

11) Coen und Levi (Livorno), Ref. Centralbl. f. Gynäkol., 1894, No. 49, p. 1261.

12) Higuchi, Arch. f. Gynäkol., Bd. 86, p. 602.

13) Leubuscher und Menser, Zeitschr. f. prakt. Aerzte, 1897, No. 11, p. 365.

14) Edmund Falk, Centralbl. f. Gynäkol., 1909, p. 179—182.

15) A. Czyzewicz, Centralbl. f. Gynäkol., 1911, p. 746—747. (Vorläufige Mitteilung.)

16) J. Menges, Ueber die Resorption von Arzneistoffen von der Vagina aus. Inaug.-Diss. Berlin, 1905. (Sonderabdruck a. d. Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap., Bd. 2.)

vermögen der Vagina bei Schwangeren, Wöchnerinnen und Fiebernden gesteigert, Menges stellte eine Beförderung der Resorption bei auftretender Entzündung der Scheidenschleimhaut fest, Higuchi endlich konnte nachweisen, daß mit der Anzahl der Geburten sowie mit dem Alter die Resorptionsfähigkeit abnimmt.

Wie steht es nun aber mit der Resorption von Eiweißstoffen von der Vagina aus? Darüber liegt bisher, abgesehen von negativen Versuchsresultaten über Tuberkulinresorption bei vaginaler Applikation durch Schwab[1]), bloß eine kurze Notiz von Clough[2]) vor, der in seinen „Beiträgen zur Frage der Anaphylaxie" gelegentlich der Besprechung der verschiedenen Wege zur Einführung des Antigens frühere Versuche von Uhlenhuth und Steffenhagen mitteilt, die zu nicht ganz eindeutigen Resultaten geführt hatten.

Uhlenhuth und Steffenhagen waren folgendermaßen vorgegangen: Bei 5 Meerschweinchen führten sie mittels weichen Katheters mit eintägigem Inervall 2—3mal je 1 ccm eines Gemisches von 10 ccm Pferdeserum mit 5 g Gummi arabic. pulv. in die Vagina ein und spritzten nach 50 Tagen die Tiere mit 0,3 ccm Pferdeserum intracardial. Dabei zeigte von den 5 Tieren eines deutlich anaphylaktische, 2 schwache und bald verschwindende Symptome, bei den 2 übrigen konnten ebenso wie bei den 4 Kontrollen überhaupt keine Krankheitserscheinungen festgestellt werden. Auf Grund dieser Protokolle sprach sich daher Clough dahin aus, daß eine Sensibilisierung von der Vagina aus zwar nicht ausgeschlossen scheine, daß dieselbe aber offenbar von der Einführung großer Eiweißmengen abhängig sei.

Bei dem großen theoretischen Interesse und der immer weitere Anerkennung findenden praktischen Bedeutung, die die Anaphylaxiefrage in der Biologie und Pathologie während der letzten Jahre erlangt hat, unternahm ich es daher, die Frage der Eiweißresorption von der Vagina aus auf Grund eines hinreichenden Versuchsmaterials nochmals eingehend zu

---

1) M. Schwab, Centralbl. f. Gynäkol., 1908, p. 1337—1341.

2) P. W. Clough, Arbeiten aus dem Kais. Ges.-Amt, Bd. 31, 1911, p. 431. Einführung des Antigens in die Vagina, Tabelle 7, p. 439.

prüfen, um nicht nur über die Resorption von tierischem, sondern auch von Pflanzen- i. e. Bakterieneiweiß Aufklärung zu gewinnen.

Bei der Versuchsanordnung hielt ich mich im allgemeinen an die von Dold[1]) in seiner Habilitationsschrift ausführlich beschriebene Technik. Die Sensibilisierung der Tiere wurde in folgender Weise vorgenommen: Das Antigen wurde in eine mit Wrightscher Gummipelotte versehene, 5 ccm Inhalt fassende, vorn dünn ausgezogene, aber glatt abgestumpfte Glaskanüle aspiriert und mit schwachem Druck nach Auseinanderdrängen der verklebten Vulva von der Seite her, unter möglichst strenger Beachtung der Vermeidung von Läsionen, in die Scheide injiziert. Die Injektion, durch die leicht 3—5 ccm Flüssigkeit der Scheide einverleibt werden konnten, wurde in 1—2-tägigem Intervall 10—14 Tage lang wiederholt. Eine besondere Vorrichtung zur Verhinderung des Ausfließens des Antigens aus der Vagina wurde nicht getroffen, da wir beobachteten, daß bei ruhigem Verhalten der Tiere ein direktes Ausfließen aus der Vagina nicht stattfindet und andererseits ein künstliches Zukleben der Vulva bei späteren Injektionen zu Epithelverletzungen hätte führen können. Die intravenöse Reinjektion wurde 4—10 Wochen nach der vaginalen Präparation vorgenommen.

Es seien zunächst die Resultate über die Resorption von Pferdeserum durch die Vagina des Meerschweinchens mitgeteilt (s. nebenstehende Tabelle I).

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß, während die intravenöse Injektion von 0,5 ccm inaktivierten Pferdeserums bei nicht vorbehandelten Meerschweinchen glatt ertragen wurde (bei Injektion von 1,0 ccm zeigten von 3 Kontrolltieren 2 leichte Krankheitserscheinungen), die Injektion dieser selben Menge bei 4 seit genügend langer Zeit (ca. 6 Wochen) präparierten Tieren innerhalb weniger Minuten den Tod unter den typischen Zeichen des anaphylaktischen Shocks herbeiführte, während die 4 erst seit 4 Wochen vorbehandelten Tiere zwar auch zum Teil schwere anaphylaktische Krämpfe oder

---

1) H. Dold, Das Bakterien-Anaphylatoxin und seine Bedeutung für die Infektion, Jena, G. Fischer, 1912.

Tabelle I. (Pferdeserum.)

No. des Tieres	Datum der Vorbehandlung	Datum der Reinjektion	Reinjektionsdosis	Wirkung	Besonderes
1	19. II. 1913 bis 3. III. 1913 (2—1-tägig)	—	—	—	In der 2. bzw. 3. Woche an Pneumonie eingegangen
2	dgl.	—	—	—	
3	dgl.	19. III. 13	0,5 ccm	schwer krank, Brechen, erholt sich	
4	dgl.	„	0,1 „	schwer krank, Krämpfe, erholt sich	
5	dgl. Kontrolle	„	0,5 „	0	
6	dgl. „	„	1,0 „	leicht krank, keine Krämpfe	
7	19. II. 1913 bis 3. III. 1913 (2—1-tägig)	30. IV. 13	0,5 „	† 3′ typ. Shock	
8	dgl.	„	0,5 „	† 4′ „ „	
9	dgl.	„	0,5 „	† 3′ „ „	
10	dgl.	„	0,5 „	† 2′ „ „	
11	dgl.	„	0,5 „	leicht krank, erholt sich	
12	dgl.	„	0,5 „	0	
13	dgl. Kontrolle (klein)	„	1,0 „	leicht krank, keine Krämpfe	
14	dgl. Kontrolle (klein)	„	0,5 „	0	
15	dgl. Kontrolle (größer)	„	1,0 „	0	
16	19.—30. III. 1913 alle 2 Tage	„	1,0 „	schwer krank, Krämpfe, erholt sich	Frisch puerperale Tiere
17	dgl.	„	1,0 „	schwer krank, Krämpfe, erholt sich	

wenigstens Brechen und Dyspnoë zeigten, aber sich wieder erholten. Ein vor 6 Wochen präpariertes Tier zeigte nur undeutliche, eines überhaupt keine anaphylaktischen Symptome; ob daran etwa die Art der Präparation (zu schnelles Abfließen des Antigens aus der Vagina) oder mehr die allgemein bei Anaphylaxieversuchen zu beobachtende Tatsache, daß manche Meerschweinchen nicht anaphylaktisch werden, die Schuld trägt, muß dahingestellt bleiben. Die ebenfalls aus der Tabelle ersichtliche Beobachtung, daß die beiden puerperalen Tiere, die vom ersten Tage nach ihrem Wurfe an vaginal vorbehandelt

worden waren, keine schwereren anaphylaktischen Symptome bei der Reinjektion nach 5 Wochen zeigten als die nicht-puerperalen Tiere, scheint mir für weitergehende Deduktionen über das Resorptionsvermögen der puerperalen gegenüber der nicht-puerperalen Vagina ungeeignet, da dazu ein viel größeres Vergleichsmaterial beigebracht werden müßte.

Jedenfalls aber geht aus der ganzen Versuchsreihe in einwandfreier Weise hervor, daß der Vagina des Meerschweinchens unbedingt die Fähigkeit zuerkannt werden muß, Pferdeserum in solcher Menge zu resorbieren, daß dadurch eine allgemeine Ueberempfindlichkeit des Meerschweinchenorganismus gegen Pferdeserum auftritt.

Daß durch die Resorption von Sperma im weiblichen Organismus Veränderungen allgemein biologischer Natur hervorgerufen werden, scheint ja auch aus den jüngst mitgeteilten Untersuchungen von Waldstein und Eckler[1]) hervorzugehen, die mittels des Abderhaldenschen Dialysierverfahrens im Kaninchenblut bereits 24 Stunden nach erfolgter Begattung Fermente nachweisen konnten, die Hodengewebe abzubauen vermögen. Gelänge es, diese „Kohabitationsreaktion“ auch zu erhalten bei Tieren, deren Muttermund vorher künstlich atretisch gemacht wurde, so wäre damit auf anderem Wege eine Bestätigung für die Resorbierbarkeit von Eiweißstoffen durch die Vagina gegeben. Es steht zu erwarten, daß gleichsinnige Untersuchungen beim Menschen noch interessante Aufschlüsse über diese Frage bringen werden.

Für uns drängte sich nach dem so deutlich positiven Ausfall der Resorptionsversuche mit tierischem Serum eine andere, praktisch wichtige Frage in den Vordergrund, nämlich ob die normale Vagina auch bakterielles Eiweiß zu resorbieren vermag. Zur Lösung dieser Frage gingen wir auf Grund der Arbeiten von Friedberger, Dold, Neufeld u. a. von der Ueberlegung aus, daß bei stattfindender Bakterieneiweißresorption durch die Scheidenschleimhaut es mittels vaginaler Präparation durch konzentrierte Bakterienaufschwemmung gelingen müßte, die Tiere in einen spezifisch anaphylak-

---

1) E. Waldstein und R. Eckler, 85. Vers. Deutsch. Naturf. u. Aerzte in Wien, 1913. Wien. klin. Wochenschr., 1913, p. 1684.

tischen Zustand zu versetzen. Das Experiment zeigte, daß dies in der Tat der Fall ist.

In einer ersten dahin gehenden Versuchsreihe verwandten wir zur Präparation die frisch aus dem menschlichen Organismus gezüchteten Stämme von echten Parasiten, nämlich einen bei der Operation eines infizierten Myoms gewonnenen Stamm von Bacterium coli haemolyticum, dessen Trägerin später an typischer Colipyämie einging; ferner einen von Herrn Sittig mir freundlichst überlassenen Stamm von Paratyphus B, der noch in der Dose von $^1/_{1000}$ mg für Kaninchen tödlich wirkte, und endlich einen von mir aus dem Blute einer an akuter Sepsis verstorbenen Puerpera gezüchteten Stamm von Streptococcus haemolyticus vulgaris.

Die Präparation der Tiere wurde in gleicher Weise wie bei der ersten Serie vorgenommen, bloß wurde statt des Pferdeserums der dicke Bodensatz von 2—3 Wochen alten, nicht abgetöteten Bouillonkulturen verwandt. Die Tiere zeigten nach der vaginalen Vorbehandlung keinerlei Krankheitserscheinungen, bloß die mit Paratyphus gespritzten Tiere ließen bei den letzten Injektionen eine katarrhalische Rötung der Vulva erkennen, und ein Tier ging nach der dritten Injektion an Peritonitis ein (Paratyphus im Peritonealexsudat und im Herzblut).

Zur Reinjektion wurde der Bodensatz von alten (3 bis 8 Wochen) und jungen (2—3 Tage) Bouillonkulturen auszentrifugiert, das Zentrifugat zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, zu einer milchigen Suspension mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt, durch $^1/_2$-stündiges Erhitzen auf 56° abgetötet und während 24 Stunden im Schüttelapparat geschüttelt. Zum Beweise, daß nicht etwa durch die höchstens in minimaler Spur in der Reinjektionsflüssigkeit noch vorhandenen Bouillonreste die anaphylaktischen Symptome ausgelöst werden, wurde von zwei Reihen der präparierten Tiere je eines mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung, der ein Tropfen Löfflerscher Bouillon beigefügt war, intrajugulär gespritzt. Bei keiner dieser beiden Kontrollen war irgendeine Reaktion festzustellen.

Tabelle II. (Parasiten.)

No. des Tieres	Geprüfte Bakterienart	Datum der Vorbehandlung	Datum der Reinjektion	Reinjektionsdosis	Wirkung	Besonderes
1	Bact. coli haemolyticum	28. VII.—4. VIII. 13	10. X. 13	2 ccm Bakteriensuspension	Schwer krank, Brechen, Kratzen, Dyspnoë	Alle 3 Tiere nach 12 Std. tot. Autopsie: Injektion sämtl. seröser Häute, pleurale Hämorrhagien, seröse Peritonitis, Injektion der Vaginalschleimhaut.
2	dgl.	"	"	dgl.		
3	dgl.	"	"	dgl.		
4	dgl., Kontrolle (Bouillon)	"	"	2 ccm NaCl + 1 Tropf. Bouill.	0	Lebt.
5	dgl., Kontrolle	nicht	"	1 ccm Suspension	0	† nach 20 Std.
6	dgl., Kontrolle	"	"	2 ccm Suspension	0	† nach 14 Std.
7	Paratyphus B	28. VII.—4. VIII. 13	—	—	—	† am 2. VIII. 13 an Peritonitis.
8	dgl.	"	10. X. 13	2 ccm Bakteriensuspension	Schwer krank, Brechen, Dyspnoë, Krämpfe	Nach 12 Std. tot. Autopsie wie oben.
9	dgl.	"	"	dgl.		
10	dgl.	"	"	dgl.		
11	dgl., Kontrolle	nicht	"	1 ccm Suspension	0	Nach 20 Std. schwer krank, getötet.
12	dgl., Kontrolle	"	"	2 ccm Suspension	0	
13	Streptococcus haemolyticus vulgaris	28. VII.—4. VIII. 13	10. X. 13	2 ccm Kokkensuspension	0	Alle Tiere bleiben am Leben und scheinen gesund.
14	dgl.	"	"	dgl.	0	
15	dgl.	"	"	dgl.	0	
16	dgl., Kontrolle (Bouillon)	"	"	2 ccm NaCl + 1 Tropf. Bouill.	0	
17	dgl., Kontrolle	nicht	"	2 ccm Suspension	0	
18	dgl., Kontrolle	"	"	3 ccm Suspension	0	

Während die Kontrolltiere keinerlei anaphylaktische Symptome zeigten, war sowohl bei den mit Colibakterien wie bei den mit Paratyphusbacillen vaginal vorbehandelten Meerschweinchen ein einwandsfreier Zustand von Bakterienanaphylaxie aufgetreten, der im Experiment zwar nicht zum sofort tödlichen anaphylaktischen Shock führte, aber nach der bestätigenden Aussage von Herrn Geheimrat Uhlenhuth und Herrn Dr. Dold aus den Symptomen des Brechens, der schweren Dyspnoë, des Kratzens und zum Teil der charakteristischen Krämpfe zweifellos als solcher gedeutet werden mußte.

Daß bei der Vorbehandlung der Tiere mit Streptokokken keine Anaphylaxie zu erzielen war, darf nicht etwa so ausgelegt werden, als ob das Streptokokkeneiweiß nicht von der Scheide aus resorbiert würde, sondern wird vielmehr mit der zuerst von P. Th. Müller sowie von Aronson hervorgehobenen Schwierigkeit zusammenhängen, bei Meerschweinchen eine aktive oder passive Anaphylaxie gegen Streptokokken zu erzeugen. Wie Dold und Aoki später zeigen konnten, muß zwar die Möglichkeit, auch aus Streptokokken ein akut wirkendes Anaphylatoxin zu gewinnen, zugegeben werden, aber die Erfahrung, daß die Abspaltung des Giftes aus Streptokokken bedeutend schwerer erfolgt als aus anderen Bakterien, z. B. den Pneumokokken, haben auch sie gemacht. Vielleicht, daß durch Verwendung noch älterer und dickerer Suspensionen zur Präparation der Tiere auch hier ein positives Resultat zu erzielen wäre. Jedenfalls aber darf der negative Ausfall der Streptokokkenversuche nicht gegen die Behauptung der Möglichkeit einer Bakterieneiweißresorption von der Vagina aus ins Feld geführt werden.

Da nach den Untersuchungen von Dold u. a. das Bakterienanaphylatoxin in gleicher Weise wie aus den echten Parasiten auch aus den Halbparasiten und aus den Saprophyten „mit mehr oder weniger großer Regelmäßigkeit“ sich abspalten läßt, und andererseits sich in der Literatur der puerperalen Wundinfektion die dort häufig zu Unrecht so benannten „Saprophyten“ auch heute immer noch eine große Rolle spielen, habe ich in einer dritten Versuchsserie die Beeinflußbarkeit des Meerschweinchenorganismus durch die

vaginale Einverleibung großer Mengen von Saprophyten studiert. Die zu der Serie verwendeten Stämme sind von mir aus der Scheide Schwangerer herausgezüchtet worden, und zwar ein Pseudodiphtheriebacillus, ein Stamm von Soor (Oidium albicans) und ein Kapselbacillus vom Typus des Bac. capsulatus Pfeiffer. Alle 3 Stämme zeichneten sich durch sehr üppiges Wachstum auf den künstlichen Nährböden aus. Präparation und Reinjektion der Tiere geschah in der gleichen Weise wie bei der zweiten Serie; bloß mußte die Suspension der Soorpilze vor der Injektion, wegen der in den alten Kulturen gewucherten, zusammengeflockten Hyphenfäden durch ein Papierfilter gegossen werden; dadurch wurde natürlich die Suspension weniger konzentriert, als zum Ausfall einer starken Reaktion erwünscht gewesen wäre. Die Kontrollprobe zum Beweise, daß keine Bouillonwirkung vorliegen kann, wurde auf Grund der vorigen Serie als überflüssig unterlassen.

Tabelle III. („Saprophyten".)

No. des Tieres	Geprüfte Bakterienart	Datum der Vorbehandlung	Datum der Reinjektion	Reinjektionsdosis	Wirkung	Besonderes
1	Pseudodiphtheriebacillen	3.—13. XII. 13 täglich	7. II. 14	1 ccm	leicht krank, Brechen, Dyspnoë	Alle 3 vorbehandelten Tiere am nächsten Morgen tot.
2	dgl.	„	„	1 „	schwerkrank, Krämpfe	
3	dgl.	„	„	1 „	schwerkrank, Krämpfe	
4	Kontrolle	nicht	„	1 „	0	Beide Kontrollen bleiben am Leben.
5	„	„	„	2 „	leicht krank, aber nicht anaphylaktisch, erholt sich schnell	
6	Bacillus capsulatus	3.—13. XII. 13 täglich	7. II. 14	1,5 ccm	leicht krank, Brechen, Dyspnoë, Kotabgang	wie oben
7	dgl.	„	„	2 „	schwerkrank, Dyspnoë, Brechen, Krämpfe	
8	dgl.	„	„	2 „	schwerkrank, Brechen, Krämpfe	
9	Kontrolle	nicht	„	1,5 „	0	
10	„	„	„	2 „	0	

No. des Tieres	Geprüfte Bakterien-art	Datum der Vor-behandlung	Datum der Reinjek-tion	Reinjek-tions-dosis	Wirkung	Besonderes
11	Soor	3.—13. XII. 13	18. II. 14	2 ccm	leicht krank, Brechen, Opisthotonus	wie oben
12	"	"	"	2 "	schwerkrank, Dyspnoë, Brechen	
13	"	"	"	2 "	schwerkrank, Dyspnoë, Brechen, Urin- und Kotabgang	
14	Kontrolle	nicht	"	2 "	0	
15	"	"	"	2,5 "	0	

Wie von vornherein zu erwarten war, ließ sich also auch mit diesen 3 Mikroorganismenarten, die für den Menschen wohl als echte „Saprophyten“ bzw. als „Halbparasiten“ angesprochen werden dürfen, eine typische Anaphylaxie im Meerschweinchenorganismus durch vaginale Präparation hervorrufen. Auf die klinische Bedeutung dieses Befundes und die daraus sich ergebenden Deduktionen für die Lehre der puerperalen Wundinfektion soll an anderer Stelle ausführlich eingegangen werden.

Zusammenfassung.

Die von Uhlenhuth und Steffenhagen bereits nachgewiesene Möglichkeit der Sensibilisierung des Meerschweinchens per vaginam besteht entschieden zu Recht. Sowohl Pferdeserum wie Bakterieneiweiß wird von der Scheidenschleimhaut in so großer Menge resorbiert, daß die Tiere dadurch deutlich anaphylaktisch werden. Die anaphylaktische Reaktion läßt sich sowohl mit „Parasiten“, wie mit „Halbparasiten“ wie mit echten „Saprophyten“ erzeugen.

[Aus der serologischen Abteilung (Prof. Dr. R. Otto) des Kgl. Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch" (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Loeffler).]

Erfahrungen mit dem Abderhaldenschen Dialysierverfahren.

Von **R. Otto** und **G. Blumenthal.**

Mit 3 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. Juli 1914.)

Die folgenden Mitteilungen beziehen sich auf Untersuchungen mit dem Abderhaldenschen Dialysierverfahren (1) bei Schwangeren (Serie I) und auf Versuche über den Abbau von Testes (Serie II), dem bekanntlich seit den Untersuchungen Fausers (2) auf Grund gleichlautender Versuchsergebnisse auch anderer Autoren für die Diagnose der Dementia praecox besondere Bedeutung zugeschrieben wird. Ueber die bei unseren Untersuchungen erzielten Resultate haben wir (3) bereits an anderer Stelle kurz berichtet. Leider war es uns aus äußeren Gründen nicht möglich, unsere Befunde, wie wir nochmals betonen möchten, durch die „optische" Methode, die nach Abderhalden keine Fehlerquellen aufweisen soll, nachzuprüfen. Wenn wir trotzdem unsere Resultate mitteilen, so geschieht dies deshalb, weil wir voraussichtlich in absehbarer Zeit nicht in der Lage sein werden, die Nachprüfungen mit dem optischen Verfahren nachzuholen, und weil andererseits auch diese Methode nach den Untersuchungen z. B. von Kjaergaard (4) dem Dialysierverfahren hinsichtlich der Eindeutigkeit der Ergebnisse durchaus nicht überlegen ist.

Was zunächst die Ausführung der Reaktion und die Herstellung der Substrate betrifft, so haben wir uns möglichst streng an die Vorschrift Abderhaldens gehalten und wollen daher von einer eingehenden Beschreibung unserer Methodik absehen und nur einige besonders wichtige Punkte berühren.

Die Placenten[1]) wurden nach sorgfältiger mechanischer Entfernung der Eihäute, Blutgerinnsel und der makroskopisch sichtbaren Gefäße mit der Schere sorgfältig und fein zerkleinert und dann unter möglichster Entfernung allen Bindegewebes mit den Fingern weiter zerzupft. Die Durchspülung der Placenten von der Nabelvene aus haben wir nur bei einigen Organen angewandt; wir möchten indessen dieses Verfahren, das uns keine Schwierigkeiten bereitet hat, deshalb empfehlen, weil es schneller und sicherer blutfreie Substrate liefert. Die fein zerzupfte Placenta wurde weiter auf einem Sieb unter fließendem kalten Wasser geknetet, wobei alle noch vorhandenen blutig gefärbten Stücke entfernt wurden. Darauf wurde das Organ mehrere Stunden in einem mit einer dicken Mullage überspannten Gefäß, welches an die Wasserleitung angeschlossen wurde, gespült. Durch das strömende Wasser sind die Organstückchen ständig in Bewegung und waschen sich ganz mechanisch blutfrei[2]). Das darauf folgende Auskochen der Organe wurde in einem emaillierten Topf so lange fortgesetzt, bis die Ninhydrinreaktion selbst bei Verwendung minimalster Kochwassermengen negativ blieb. In der angegebenen Weise stellten wir auch die Substrate aus anderen Organen dar.

An dieser Stelle möchten wir gleich bemerken, daß es uns bis auf eine Ausnahme nicht gelungen ist, zur Schwangerschaftsdiagnose eine Placenta zu erhalten, die nicht auch vom Krebsserum abgebaut wurde. Wie aus den Mitteilungen von Lange und anderen Autoren hervorgeht, ist es auch diesen nicht möglich gewesen, Substrate zu erhalten, welche in dieser Hinsicht der Forderung Abderhaldens entsprachen. Im allgemeinen verhielten sich unsere Placenten so, daß diejenigen Organe, welche vom Gravidenserum gut abgebaut wurden, auch mehr oder weniger stark von Krankenseris angegriffen wurden, und zwar meist am stärksten vom Serum Carcinomkranker, weniger stark vom Serum luetischer Personen

---

1) Es wurden stets nur normale Placenten gesunder Mütter frisch verarbeitet. Zur Herstellung der übrigen Substrate verwandten wir Organe von Personen, die nach äußeren Verletzungen ad exitum gekommen waren.

2) Durch das Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung wurden bessere Resultate nicht erzielt.

und verhältnismäßig am schwächsten vom Serum sonstiger Kranker [1]).

Um der oben genannten Forderung Abderhaldens gerecht zu werden, haben wir eine Placenta versuchsweise so lange gekocht, bis sie nicht mehr vom Carcinomserum angegriffen wurde. Bei der Nachprüfung dieses Substrates mit Gravidenserum (s. Serie II) zeigte sich aber dann, daß dieses Organ nunmehr auch vom Gravidenserum sehr schwach, resp. gar nicht abgebaut wurde. Es bestätigte sich also die unter anderen von Lange (5) ausgesprochene Befürchtung, daß übermäßiges und häufiges Kochen die spezifischen Eiweißkörper entfernt und die Placenta unbrauchbar macht.

Die Aufbewahrung der Organe erfolgte in dem letzten (Aqua destillata-)Kochwasser (ohne Chloroformzusatz) unter Toluol.

Besondere Sorgfalt wurde auf die Prüfung und Kontrolle der Hülsen gelegt. Die Hülsen wurden einzeln mit Nummern markiert. Es wurden nur solche Hülsen in Gebrauch genommen, welche bei mehrmals wiederholter Prüfung eine gleichmäßige Durchlässigkeit gegen $^1/_2$-proz. Seidenpeptonlösung gezeigt hatten und selbstverständlich undurchlässig gegen (5-proz.) Eiereiweißlösung (Prüfung mit Alméns Reagens oder 30-proz. Sulfosalizylsäure) befunden waren. Statt der Seidenpeptonlösung haben wir vielfach auch 2-proz. Witte-Peptonlösung benutzt. Nachteile haben wir bei der Benutzung steriler und sorgfältig filtrierter Witte-Peptonlösung nicht beobachtet. (Es scheint uns sogar, als ob die letztere Lösung gegenüber der Seidenpeptonlösung schärfere Unter-

---

1) Nur bei einer Placenta (No. IX), mit der wir zuletzt arbeiteten, erfolgte regelmäßig kein nennenswerter Abbau durch Carcinomserum, wohl aber deutlich durch Gravidenserum. Allerdings war die Stärke des Abbaues durch Gravidenserum im Durchschnitt schwächer als bei den anderen von uns verwandten Placenten. Wie weiter unten (bei Besprechung der „Spezifizität" der Reaktion) auseinandergesetzt werden wird, ließ sich auch dieser Befund durch ausnahmsweise schwere Abbaufähigkeit des Substrates mit unseren sonstigen Befunden in Einklang bringen. Wir möchten bei der Gelegenheit bemerken, daß auch eine im Physiologischen Institut in Halle von Herrn Stabsarzt Schönhals präparierte und uns freundlichst überlassene Placenta ebenfalls vom Carcinomserum abgebaut wurde.

schiede in der Durchlässigkeit der Hülsen erkennen läßt.) Nach jedem Gebrauch wurden die Hülsen sorgfältig unter der Wasserleitung gespült und dann 3—4 Stunden in fließendem Wasser gewässert. Die Aufbewahrung erfolgte in weithalsigen braunen Glasflaschen mit eingeschliffenem Glasstopfen in doppelt destilliertem abgekochten Wasser unter Toluol.

Die folgende Tabelle I zeigt eine Hülseneinstellung, wie wir sie vorzunehmen pflegten. Die einzelnen Zahlen (+ 1, + 2, + 3) bedeuten die Stärke des Ausfalles der Ninhydrinreaktion. Dieselbe betrug anfangs bei den 18 Hülsen im Durchschnitt $2^1/_9$ und sank im Laufe von 2—3 Wochen infolge der Wässerung auf durchschnittlich 3. Durch das dann vorgenommene kurze Auskochen, bei dem wir uns darauf beschränkten, die Hülsen nur wenige Sekunden in kochendes Wasser einzutauchen, verringerte sich der Durchlässigkeitsgrad wieder auf $2^2/_9$. Von den 18 Hülsen, die hier angeführt sind, sind 11 als gut befunden worden, und zwar alle die Hülsen, bei denen die Durchlässigkeit gleich blieb oder vielmehr sich in gleichem Maße gering verstärkte. Hülsen, die bei den einzelnen Prüfungen wechselnd starke Durchlässigkeit zeigten, wurden verworfen, ebenfalls die Hülsen, welche von vornherein sehr geringe oder sehr starke Durchlässigkeit zeigten.

Tabelle I. Hülsen-Einstellung.

Bezeichnung der Hülse	Stärke der Ninhydrinreaktion bei Prüfung				Ausgekocht (a = siehe Bemerk.)	Stärke der Reaktion bei Prüfung V	Bemerkungen
	I	II	III	IV			
1 (2)	+ 2	+ 3	+ 1	+ 2	.	.	a = 5″ lang in koch. Wasser gelassen
2 (6)	+ 3	+ 3	+ 3	+ 4	a	+ 3	gut (+ 3)
3 (10)	+ 2	+ 2	+ 2	+ 3	a	+ 2	gut (+ 2)
4 (14)	+ 1	+ 2	+ 2	+ 4	.	.	
5 (15)	+ 4	+ 2	+ 4	+ 2	.	.	
6 (18)	+ 3	+ 3	+ 4	.	.	.	gut (+ 3)
7 (23)	+ 2	+ 2	+ 4	+ 2	.	.	
8 (30)	+ 2	+ 3	+ 1	+ 4	.	.	
9 (31)	+ 1	+ 3	+ 3	+ 4	.	.	
10 (33)	+ 2	+ 2	.	+ 3	a	+ 2	gut (+ 2)
11 (34)	+ 2	.	+ 3	+ 3	a	+ 3	gut (+ 3)
12 (43)	+ 1	+ 2	+ 2	+ 2	a	+ 1—2	gut (+ 2)
13 (44)	+ 1	+ 2	+ 2	.	.	.	gut (+ 2)
14 (48)	+ 2	+ 3	.	+ 3	a	+ 2	gut (+ 3)
15 (50)	+ 2	+ 2	+ 2	+ 3	a	+ 2	gut (+ 2)
16 (58)	+ 3	+ 3	+ 2	+ 2	.	.	
17 (77)	+ 3	.	+ 3	+ 4	a	+ 2—3	gut (+ 3)
18 (89)	+ 2	+ 2	+ 3	.	a	+ 2	gut (+ 2)
Durchschnitt	$2^1/_9$	$2^7/_{16}$	$2^9/_{16}$	3	.	$2^2/_9$	

Wir haben immer nur mit Hülsen von mittlerer Durchlässigkeit (+ 2 und + 3) gearbeitet und natürlich bei einem Versuch entweder nur + 2er oder nur + 3er Hülsen verwandt. Die für gut befundenen Hülsen wurden nach dem Grade ihrer Durchlässigkeit gesondert und dauernd weiter kontrolliert. Sobald sich nachträglich doch noch Unregelmäßigkeiten in der Durchlässigkeit gegenüber Peptonlösungen zeigten, sind sie entfernt worden. Während, wie gesagt, im allgemeinen durch längeres Wässern die Durchlässigkeit der Hülsen erhöht wurde, so veränderte das fortlaufende Benutzen der Hülsen von Versuch zu Versuch diese meist in entgegengesetztem Sinne.

Anfangs haben wir bei der Schwangerschaftsdiagnose nur solche Hülsen verwandt, die vor und nach jedem Versuch auf ihre Durchlässigkeit geprüft waren. Von diesem Verfahren haben wir später Abstand genommen, da sich zeigte, daß eine sichere Kontrolle über die Durchlässigkeit der Hülsen auch hierdurch nicht gegeben war und trotz aller dieser Kautelen dennoch Ausfälle vorkamen, die auf Hülsenfehler zurückzuführen waren. Dies zeigte sich besonders bei der Ansetzung von Doppelreihen, wie dies von uns im II. Teil der Untersuchungen regelmäßig geschehen ist und auch von anderen Autoren (zuerst von Oeller und Stephan, 6) sehr empfohlen wurde.

Allerdings muß zugegeben werden, daß schon durch die Verwendung des Ninhydrins Fehlerquellen entstehen können, da die Ninhydrinreaktion durch alle möglichen Stoffe beeinflußt wird (s. auch p. 18 ff.). Trotzdem wir bei den Versuchen nur sorgfältig gereinigte Gläser benutzt haben, konnten wir mehrfach beobachten, daß die gleiche Menge desselben Dialysates, in verschiedenen Reagenzgläsern gekocht, ungleich starke Ninhydrinreaktion gaben.

Die Reinigung der Gläser erfolgte durch sorgfältiges mechanisches Waschen in heißem Wasser, dann Nachspülen in ebenfalls heißem, fließendem Wasser ohne Anwendung von Chemikalien, da sich zeigte, daß versehentlich zurückbleibende geringe Spuren solcher Substanzen die Reaktion beeinflussen können. Die sorgfältig gereinigten Gläser wurden in Aqua destillata ausgekocht und im Heißluftschrank sterilisiert.

Das Füllen der Hülsen erfolgte, nachdem dieselben in ein leeres Kölbchen gesetzt waren. Erst nach ihrer Beschickung, wobei stets auf genaue quantitative Abmessung der Substrate (0,5 g) und des Serums (Feinpipette) geachtet wurde, wurden die Hülsen mit steriler Pinzette in das eigentliche, vorher mit 20 ccm Aqua destillata beschickte Versuchskölbchen umgesetzt, ohne daß sie vorher abgespült wurden. Der Hülseninhalt und die Außenflüssigkeit wurden mit ca. 2—4 ccm Toluol überschichtet und die Hülsen dann genau 19—20 Stunden in einem neuen, nur für diese Zwecke bestimmten Brutschrank bei 37° belassen, da die gleiche Zeitdauer der Bebrütung beim Dialysierverfahren von größter Bedeutung ist.

Wir verwandten regelmäßig 1,0 ccm Serum und haben dieses in der Versuchsserie II regelmäßig mit 1,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, um eine gleichmäßigere Bedeckung der Substrate zu erzielen. Störungen durch diese Verdünnungen haben wir nicht bemerkt. Als Kontrolle wurde die gleiche Menge Serum allein (in Serie II mit Kochsalz verdünnt) angesetzt. Auf die sogenannte „Summationskontrolle" — nach Frank, Rosenthal und Biberstein (7) — (in einem Glase eine Hülse, enthaltend 1 ccm Serum, und eine zweite Hülse, enthaltend 0,5 g Substrat + 1 ccm NaCl), sowie auf die Kontrolle „inaktiviertes Serum + Substrat" haben wir ebenso verzichtet wie auf die Ansetzung einer Kontrolle „Substrat allein + NaCl", nachdem sich bei Vorversuchen herausgestellt hatte, daß der negative Ausfall der Substratprüfung vor Ansetzung des Versuches völlig genügte.

Die Untersuchung des Dialysates am nächsten Tage erfolgte in der Weise, daß von jedem Kölbchen je ein Reagenzglas mit 10,0 ccm bzw. 1,0 ccm beschickt wurde. Letzteres diente zur Prüfung, ob im Dialysat Spuren von Eiweiß vorhanden waren, die auf Undichtigkeit der Hülse oder zufällige Verunreinigung hinwiesen. Mit Almén positiv reagierende Röhrchen wurden bei dem Ergebnis des Versuches nicht berücksichtigt. Derartige Hülsen wurden nochmals sorgfältig auf Eiweißdurchlässigkeit geprüft und gegebenenfalls von der weiteren Benutzung ausgeschaltet. Wenngleich auf diese Weise unbrauchbare Hülsen nur sehr selten ermittelt wurden, so möchten wir diese Kontrolle doch sehr empfehlen, zumal

sie uns mehrfach auf augenscheinlich ungenügend gereinigte Gläser aufmerksam gemacht hat.

Die Tatsache, daß die Konzentration und die Mengenverhältnisse bei der Ninhydrinreaktion eine große Rolle spielen, worauf ja auch besonders Abderhalden und Schmidt (8) hingewiesen haben, veranlaßte uns, in der II. Versuchsreihe außer 10 ccm des Dialysates regelmäßig auch 5 ccm desselben mit der gleichen Ninhydrinmenge (und zwar 0,2 ccm einer 1-proz. bzw. 1 ccm einer 0,2-proz. Ninhydrinlösung) zu kochen. Das Kochen erfolgte nach der Sekundenuhr mit Siedestäbchen. Die zum Kochen benutzten Siedestäbchen wurden mit Aqua dest. ausgekocht und dann vorsichtig im Heißluftschrank getrocknet. Es wurden stets größere Mengen auf einmal vorbereitet und von jeder Serie an mehreren Stäbchen Stichproben mit Ninhydrin angestellt.

Häufig konnten wir beobachten, daß der Ausschlag beim Kochen von 5 ccm Dialysat deutlicher war als bei 10 ccm. Das ist erklärlich, weil mit den gleichen Ninhydrindosen kleinere Mengen einer bestimmten Aminosäurelösung stärker als größere reagieren können. Gibt man z. B. von einer schwachen (0,05-proz.) Alaninlösung fallende Dosen (10, 5,0, 2,5 und 1,0 ccm) in verschiedene Reagenzgläser und setzt zu jedem Röhrchen 1 ccm einer 0,2-proz. Ninhydrinlösung, so erhält man bei:

10,0 ccm	deutliche Blaufärbung		(+)
5,0 „	starke	„	(++)
2,5 „	sehr starke	„	(+++)
1,0 „	„ „	„	(+++)

Die Reaktion ist also am deutlichsten bei den Röhrchen, in denen zwar weniger Alanin enthalten, aber die Konzentration des Ninhydrins eine stärkere ist.

Die zur Untersuchung benutzten Sera wurden in der Weise gewonnen, daß wir das übersandte Blut möglichst im Eisschrank absetzen ließen und das Serum am nächsten Tage abpipettierten. Vor dem Gebrauch wurde das Serum zweimal scharf zentrifugiert. Stark hämolytische Sera wurden nicht verwandt. Ein geringerer Hämoglobingehalt störte nach unseren Erfahrungen den Verlauf der Reaktion nicht. (S. auch Lange.) Von einer Vordialyse, die bei Versuchen mit Tierseris durchaus zu empfehlen ist, kann man bei der Untersuchung menschlicher Sera nach unseren Beobachtungen absehen.

Im allgemeinen müssen wir aber sagen, daß beim Dialysierverfahren sowohl durch die Technik als auch durch die Utensilien sehr leicht ungleichmäßige Befunde und Fehler verursacht sein können.

Was die Sera der Serie I betrifft, so stammten 30 Sera von Schwangeren[1]) und 40 von nichtschwangeren Personen (Frauen und Männer); für Ueberlassung der ersteren sind wir Herrn Professor Dr. Koblanck zu Danke verpflichtet. Die Sera von nichtschwangeren Personen betrafen:

4 Sera von Gesunden,
13 „ „ Carcinomkranken und
23 „ „ sonstigen Kranken: Lues, Metalues, Hauterkrankungen, Tuberkulose, Pyosalpinx, Myom, Ovarialtumor.

In der Regel ist die Untersuchung ausgeführt, ohne daß die klinische Diagnose der Kranken bekannt war. Erst nach Abschluß der Untersuchung haben wir in jedem einzelnen Falle uns über die klinische Diagnose orientiert.

Wie aus beifolgender Tabelle ersichtlich ist, verlief die Ninhydrinreaktion

I. bei 30 Schwangeren	28mal positiv, und zwar	10mal	+++
		11mal	++
		7mal	+
	2mal negativ		
II. bei 13 Carcinomkranken	12mal positiv, und zwar	2mal	+++
		8mal	++
		2mal	+
	1mal negativ		
III. bei 23 sonstigen Kranken	14mal positiv, und zwar	0mal	+++
		5mal	++
		9mal	+
	9mal negativ		
IV. bei 4 Gesunden	0mal positiv		
	4mal negativ		

Zu der Bezeichnung der Reaktion möchten wir bemerken, daß die Stärke der Reaktion berechnet ist nach dem Unterschied des Ausfalles der Ninhydrinreaktion bei dem Kontrollröhrchen und dem Versuchsröhrchen[2]) (siehe Tabelle).

1) Es handelte sich meist um Schwangere des 6. bis 9. Monats, nur in vereinzelten Fällen, z. B. Serie I No. 25, kam eine solche früherer Monate in Frage.

2) Ueber den verschiedenen Ausfall der Ninhydrinreaktion bei den Kontrollen siehe Bemerkungen p. 31.

Tabelle II. Serie I.

Lfde. No.	Datum 1913/1914	Bezeichnung der Sera	Geschlecht	Placenta	Kontrolle	Resultat	Bemerkungen
				A. Gravide.			
1	12. XI. 13	L.	w.	++	+	+1	
2	"	D.	"	+++	+	+2	
3	15. XI.	K.	"	+++	+	+2	
4	"	S.	"	+++	+	+2	
5	19. XI.	Kr.	"	++	++	—	
6	"	Bu.	"	+++	++	+1	
7	24. XI.	Ni.	"	+	± ?	+1	
8	10. XII.	X.	"	+++	— ?	+3	
9	"	Y.	"	+++	— ?	+3	
10	15. XII.	Bo.	"	+++	— ?	+3	
11	"	Le.	"	+++	± ?	+3	
12	"	Gr.	"	+++	—	+3	
13	31. I. 14	N.	"	++	—	+2	
14	"	M.	"	++	— ?	+2	
15	"	Mi.	"	++	—	+2	
16	11. II.	S. 2	"	++	— ?	+2	
17	12. II.	S. 3	"	++	— ?	+2	
18	17. II.	S. 5 E.	"	±	±	—	Eklampsie
19	28. II.	G.	"	+	—	+1	
20	"	L.	"	++	±	+2	
21	"	S.	"	+++	± ?	+3	
22	6. III.	Kl.	"	++ (+++)	±	+2	
23	"	We.	"	+++	± ?	+3	
(24)	(11. III.	Fr.	"	±	±	—)	NB. Zu No. 24
24 (25)	"	E.	"	+++	—	+3	
25 (26)	14. III.	Mi.	"	+++	—	+3	
26 (27)	"	Z.	"	++	— ?	+2	
27 (28)	17. III.	A. I	"	++	+	+1	
28 (29)	"	B. II	"	+++	—	+3	
29 (30)	"	C. III	"	+ (++)	±	+1	
30 (31)	"	D. IV	"	+	—	+1	
				B. Gesunde. (Siehe auch No. 62—64.)			
32	2. XII. 14	I.	w.	+	+	—	
33	13. II.	N. 1	"	—	—	—	
34	"	N. 2	"	—	—	—	
35	"	I. a	"	±	±	—	
				C. Kranke. Carcinom (einschließlich 1 Sarkom).			
36	12. XI. 13	G.	w.	++	+	+1	
37	15. XI.	Ho.	"	+++	—	+3	
38	19. XI.	W.	"	++	— (?)	+2	
39	8. I. 14	Schu.	"	+++	—	+3	
40	31. I.	B.	"	++ (+++)	±	+2	
41	28. II.	C. 2	"	++	+	+1	
42	3. III.	Neu.	m.	±	±	—	
43	6. III.	M.	"	+++	+	+2	
44	"	St.	"	+++	+	+2	Sarkom
45	"	K.	"	+++	+	+2	
46	"	Sl.	w.	++ (+++)	±	+2	
47	"	Ll.	m.	+++	+	+2	
48	"	Sch.	"	++ (+++)	±	+2	

NB. Zu No. 24: Die spätere Operation ergab Ovarialtumor! Da anfangs (als das Serum untersucht wurde) noch der Verdacht auf Gravidität (eventuell neben dem Vorliegen einer Geschwulst) bestand, ist dieses Serum seinerzeit unter die Gruppe A aufgenommen (s. Text). Die Zahl der Graviden-Sera beträgt demnach nur 30.

Zusammenfassung A. Gravide (No. 1—30 (31)): 30 { 10 = ×××, 11 = ××, 7 = × } 28 +; 2 = — 2 —

Zusammenfassung B. Gesunde (No. 32—35): 4 = —

Zusammenfassung C. Kranke (No. 36—48): 13 { 2 = ×××, 8 = ××, 2 = × } 12 +; 1 = — 1 —

Lfde. No.	Datum 1913/1914	Bezeichnung der Sera	Geschlecht	Placenta	Kontrolle	Resultat	Bemerkungen
				Lues.			
49	17. XI. 13	Pu.	m.	++	+	+ 1	Paralyse
50	2. XII.	M.	„	+++	+	+ 2	Lueserkrankungen in den verschiedenen Stadien mit positiver Wa.R.
51	31. I. 14	M.	„	++	—	+ 2	
52	24. II.	Ei.	w.	+ (++)	± ?	+ 1	
53	25. II.	K.	„	±	±	—	
54	26. II.	Rom.	m.	++	++	—	
55	27. II.	Li.	„	++ (+++)	+ (++)	+ 1	
56	3. III.	L. 4	„	+	+	—	
57	6. III.	Kr.	„	+	+	—	
58	11. III.	K.	„	+	—	+ 1	
59	„	fr.	w.	±	±	—	
69	13. III.	L. 1	m.	++	+	+ 1	
61	14. III.	L. 2	„	+	—	+ 1	
				Diverse Krankheiten (dazu kommt No. 24 aus Gruppe A).			[22 + 1[1]) =] 23
62	6. XI. 13	Ch. a.	w.	+	—	+ 1	Tuberkulose der Hornhaut — Diese Sera wurden als Proben von „Gesunden" eingesandt. Die auf Grund des positiven Befundes angestellten Ermittelungen ergaben die nebenstehenden Diagnosen
63	7. XI.	S. fr.	„	++	± ?	+ 2	Pityriasis
64	11. XI.	S. Vi.	„	+ (++)	±	+ 1	Rekonvaleszentin nach Diphtherie (Bac.-Trägerin)
65	12. XI. 13	Hu.	„	+++	+	+ 2	Myom
66	19. XI.	Ku.	„	++	± ?	+ 2	Pyosalp.
67	24. XI.	Tr.	„	+	—	+ 1	„
68	„	Wa.	„	±	±	—	Myom
69	8. I. 14.	R.	„	±	± ?	—	Pyosalp.
70	„	Z.	„	±	±	—	Myom

Zusammenfassung (Nr. 49–70): {0 = XXX, 5 = XX, 9 = X} 14 +; 9 = — 9 —; (8 + 1)

1) Siehe No. 24 Gruppe A.

Uebersichtstabelle zur Serie I.

Abbau von Placenta.

Bezeichnung der Blutsera	Anzahl	Stärke der Reaktion				Positive Reaktion in Proz.
		+ 3	+ 2	+ 1	—	
Gravide	30	10	11	7	2	94
Carcinomkranke	13	2	8	2	1	93
Sonstige Kranke	23	—	5	9	9	61
Gesunde	4	—	—	—	4	0

Es verlief demnach die Reaktion bei Graviden in 94 Proz. der Fälle positiv, bei Carcinomkranken in 93 Proz., bei sonstigen Kranken in 61 Proz. und bei Gesunden in 0 Proz. Die hohe Zahl der positiven Befunde bei den nichtgraviden Kranken der Gruppe III ist vielleicht dadurch bedingt, daß es sich in der Mehrzahl um Syphilitiker handelt, die in einem besonders hohen Prozentsatz Placenta abbauten.

Aus der Uebersichtstabelle zu Serie I geht weiter hervor, daß im Gegensatz zu den Carcinomkranken die Ninhydrinreaktion bei sonstigen Kranken prozentualiter seltener und quantitativ schwächer positiv ausfällt als bei Graviden. Besonders möchten wir darauf hinweisen, daß von 3 Myomkranken nur 1 positiv reagierte, während allerdings bei 3 Pyosalpinxkranken die Reaktion nur 1mal negativ war.

Zu den 100 Proz. negativen Resultaten bei Gesunden ist zu bemerken, daß damit nicht gesagt sein soll, daß alle äußerlich gesunden, nichtgraviden Personen negativ reagieren. Wir hatten auch bei mehreren nichtgraviden Frauen, die uns zunächst als klinisch gesund bezeichnet waren, positive Befunde erhalten; allerdings ließen sich in diesem Falle bei den betreffenden Personen gewisse Störungen nachweisen, die mit dem positiven Ausfall der Reaktion wohl in Zusammenhang zu bringen sind (s. No. 62—64, ein Fall von Tuberkulose der Hornhaut, ein Fall von Pityriasis und eine Diphtherierekonvaleszentin, die Bacillenträgerin war).

Wir schließen aus diesen Untersuchungen, *daß es möglich ist, durch das Dialysierverfahren trotz der ihm anhaftenden Fehlerquellen das Serum von Graviden und gesunden Nichtgraviden zu unterscheiden. Der positive Ausfall der Reaktion kann allerdings nicht als beweisend für Schwangerschaft angesehen werden, da auch Sera von Kranken, besonders von Carcinomkranken, Placenta abbauen. Der negative Ausfall spricht nach unseren Erfahrungen aber mit großer Wahrscheinlichkeit gegen das Bestehen einer Gravidität.*

Dieser Befund steht im Gegensatz zu den Angaben *Abderhaldens*, deckt sich aber mit denen zahlreicher anderer Autoren [siehe Umfrage in der „Medizinischen Klinik“ bei den

geburtshilflichen Kliniken (9), Kjaergaard (4), Parsamoff (10), Allmann (11) u. a.].

Wir beabsichtigen nicht, hier ausführlich auf die ähnlichen Befunde dieser Autoren mit dem Dialysierverfahren einzugehen, sondern wir möchten hier nur auf die kürzlich erschienene Arbeit von Kjaergaard hinweisen, dessen Resultate sich mit den unserigen gut decken. Er hat Untersuchungen bei 95 Graviden und 120 Nichtgraviden, darunter 24 Gesunden, angestellt. Von den 95 Graviden gaben

3 keine Reaktion,
6 Spur,
2 Spur bis schwache Reaktion,
84 schwache oder starke Reaktion.

Von den 120 Nichtgraviden haben 40 eine entschieden positive Reaktion ergeben. Von den 24 Gesunden (20 Frauen und 4 Männern) war nach 16-stündiger Dialyse bei einigen eine Spur, aber nur bei zweien eine deutlich positive Reaktion nachzuweisen. Die eine von diesen positiv reagierenden Gesunden war eine nichtgravide Frau, die kurz vor der Menstruation stand. Daß bei diesen Personen eine Steigerung der proteolytischen Fermente häufig gefunden wird, hat Kjaergaard (4b) bei weiteren Untersuchungen gezeigt. Auf Grund seiner Untersuchungen kommt Kjaergaard zu dem gleichen Urteil über den Wert des Abderhaldenschen Dialysierverfahrens bei der Schwangerschaft, wie wir. Er faßt sein Urteil dahin zusammen, daß der negative Ausfall bei 16-stündiger Dialyse stark gegen progressive Gravidität spricht, daß dagegen eine positive Reaktion durch andere Zustände als durch Gravidität verursacht sein kann und deswegen von geringerem Wert ist.

Wenn wir somit die Angaben Abderhaldens nicht bestätigen konnten, so möchten wir im Gegensatz zu L. Michaelis und L. v. Lagermarck (12) doch behaupten, daß das Serum von Schwangeren sich in erkennbarer, praktisch allerdings schwer zu verwertender Weise von dem gesunder, nichtschwangerer Personen durch das Dialysierverfahren unterscheiden läßt. Wie neuere mikrochemische Untersuchungen des Dialysates gezeigt haben, ist dieser Befund auch auf direktem mikrochemischen Wege bestätigt worden.

So hat kürzlich Griesbach (13) auf Grund genauester Stickstoffbestimmungen des Dialysates (in Uebereinstimmung mit Abderhalden und Fodor) gefunden, daß vom Gravidenserum Placentaeiweiß abgebaut wird, nicht dagegen vom Serum Gesunder und Kranker. Die Zahl der Untersuchungen ist allerdings sehr gering. Sera Krebskranker hat Griesbach nicht geprüft.

Im Anschluß an die vorstehenden Schwangerschaftsreaktionen haben wir dann noch eine Anzahl menschlicher Sera

auf ihre Abbaufähigkeit von Testes untersucht, da nach den Befunden von verschiedenen Autoren Dementia praecox-Kranke in spezifischer Weise die Keimdrüsen ihres Geschlechtes, oft auch Gehirn und Schilddrüsengewebe abbauen sollen.

Die Untersuchungen sind in der folgenden Tabelle Serie II zusammengestellt. Die Sera stammten einmal von 16 Praecox-Kranken. Für die Uebersendung dieser Blutproben sind wir Herrn Dr. Stolzenburg (Kgl. Provinzial-Heil- und Pflegeanstalt Lüneburg) zu Dank verpflichtet. Außerdem haben wir 4 klinisch sicher Gesunde und eine größere Anzahl sonstiger Personen auf Abwehrfermente gegenüber Testes und anderen Organen untersucht. Es handelt sich hierbei um 10 Gravide, 7 praecoxverdächtige Kranke (diese Blutproben waren uns vom „Wilhelmstift" in Potsdam übersandt worden), 6 Lueskranke, 7 Manisch-Depressive und 6 Kranke mit anderen Leiden (Sarkome, Carcinome, Myome).

Mit menschlichen Testes als Substrat wurden im ganzen die Blutsera von 50 Personen geprüft. Dabei ergab sich, wie aus der Uebersichtstabelle zu Serie II ersichtlich ist, daß positiv reagierten:

Praecoxkranke	81	Proz.
verdächtige Praecoxkranke	83	„
Manisch Depressive	80	„
Gravide	87,5	„
Lueskranke	100	„
sonstige Kranke	80	„
Gesunde	0	„

Es zeigte sich also ähnlich wie beim Abbau der Placenta durch Gravidenserum, daß nicht allein das Serum Praecoxkranker, sondern auch das anderer Personen Testes abbaute, und zwar zum Teil in noch erheblicherem Prozentsatz. Rechnet man allerdings die ±-Reaktionen nicht zu den positiven, so ergeben sich etwas günstigere Zahlen (s. Uebersichtstabelle II). Bemerkenswert ist gegenüber der von verschiedenen Seiten gemachten Angabe, nach der es gleichgültig sein soll, ob vom Menschen oder vom Tier stammende Organe als Substrat verwandt werden, der Befund, daß von den Praecoxkranken, die Menschentestes nicht abbauten, Rindertestes abgebaut wurden. Diese Beobachtung steht z. B. im Gegensatz zu den Befunden von Fuchs und Freund (14).

Tabelle III. Serie II.

Laufende No.	Datum 1914	Bezeichnung der Sera	Geschlecht	Gehirn	Herzmuskel	Leber	Niere	Testes	(Ri.-Testes)	Placenta	Ovarien	(Ri.-Ovarien)	Carcinom	Struma	Serum allein Kontrolle	Resultat *)	Bemerkungen
								A. Dementia praecox-Kranke.									
1	26. III.	Sol.	m.	±	.	±?	.	+	.	+ (++)	.	.	.	.	—	+ [1]	
2	19. V.	Bo.	„	±?	±?	.	.	+	++	+	.	.	—[1]	.	—?	+ 1	[1] Ovarialtumor-Substrat
3	„	Bu.	„	—?	+	.	.	+	—?	++	.	.	—[1]	.	—	+ 1	„ „
4	„	No.	„	±	±?	.	.	±	++	.	.	.	.	.	±?	—	
5	„	Ri.	„	+	.	.	.	+	+	.	.	.	.	.	—?	+ 1	
6	„	Ro.	„	+	.	.	.	+	±	+++	.	.	.	.	±	±	
7	„	Zi.	„	±	.	.	.	±	±	.	.	.	.	.	—?	±	
8	20. V.	He.	„	+	±	.	.	++	.	.	.	.	.	.	—?	+ 2	
9	„	Ho.	„	±	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	—?	+ 1	
10	„	Kr.	„	++	.	.	.	++	.	.	.	.	.	.	±	+ 1—2	
11	27. V.	Schi.	„	—?	±	±	±	+++	+++	.	.	±	.	.	+	+ 2	
12	„	Ka.	„	—?	+	—	++	+	±	.	.	—?	.	.	±	±	
13	„	Lu.	„	±?	±	.	.	+++	.	+++	.	.	+ (++)[2]	.	—?	+ 3	[2] Mäusetumor-Substrat
14	29. V.	Schle.	„	+	+	±	—?	±	+++	++	.	.	.	.	+	—	
15	„	Hü.	„	+	+	+	—	±	++	+	.	.	.	.	±	—	
16	„	Da.	„	+	.	.	.	+	++	+++	.	.	.	.	—?	+ 1	
								B. Klinisch gesunde Personen.									
17	3. IV.	Dr. K.	m.	±?	±	—	—?	—	.	±	.	.	.	.	—	—	
18	23. IV.	Fo.	„	—	.	.	.	±?	.	—	.	.	.	.	—?	—?	
19	„	Tha.	„	.	.	.	.	±?	.	—	±	.	.	.	±	—	
20	7. V.	K.	„	.	±	.	.	±?	.	±?	.	.	.	.	±?	—	

*) Das Resultat bezieht sich nur auf den Abbau von Menschentestes.

Serie II (Fortsetzung).

Laufende No.	Datum 1914	Bezeichnung der Sera	Geschlecht	Gehirn	Herzmuskel	Leber	Niere	Testes	(Ri.-Testes)	Placenta	Ovarien	(Ri.-Ovarien)	Carcinom	Struma	Serum allein	Resultat*)	Bemerkungen
								C. Gravide und Kranke (außer Dementia praecox-Kranken).									
21	29. IV.	Grav.-Ser. 2	w.	.	.	.	.	±	.	— (?)[1])	.	.	.	.	—	±	[1]) Zu diesen Versuchen wurde eine absichtlich kleinverarbeitete und lange ausgekochte Placenta (V.) benutzt (s. Text)
22	4. V.	„ „ 4	„	.	.	.	.	+++	.	±[1])	.	.	.	.	+	+ 2	
23	6. V.	„ „ 5	„	.	.	.	.	++/+++	.	± ?[1])	.	.	.	.	—	+ 2–3	
24	„	„ „ 6	„	.	.	.	.	—?	.	— (?)[1])	.	.	.	.	—	— ?	
25	7. V.	„ „ 7	„	.	.	.	.	+	.	±[1])	.	.	.	.	±	±	
26	„	„ „ 8	„	.	.	.	.	±	.	— ?[1])	.	.	.	.	—	±	
27	8. V.	„ „ 9	„	.	.	.	.	+	.	±[1])	.	.	.	.	—	+[1])	
28	9. V.	„ „ 10	„	—	.	.	.	±	.	+	.	.	.	.	—	±	
29	11. VI.	„ „ 11	„	.	.	.	.	.	±	{ — ?[1]) + g[2]) }	.	.	.	±	—	.	[2]) g = Placenta, die in der gewöhnlichen Weise vorbereitet war (VIII.)
30	„	„ „ 12	„	.	.	.	.	.	± ?	{ ±[1]) + g }	.	.	.	+	—	.	
31	8. IV.	Ma.[3])	„	±	.	.	.	+ (++)	.	.	++	.	.	.	±	+[1])	[3]) Sera Kranker, bei denen Verdacht auf Dementia praecox besteht (No. 31 bis 37)
32	„	So.	„	±	± ?	.	.	+ (++)	.	.	±	.	.	.	± ?	+[1])	
33	„	Ge.	m.	+	.	.	.	.[4])	.	.	+ (++)	.	.	.	± ?	.	
34	23. IV.	De.	w.	±	.	.	.	—	.	.	++	.	.	.	—	—	
35	9. V.	Kr.	m.	±	.	.	.	++	.	.	.	.	.	.	±	+ 1–2	
36	19. V.	To.	„	± ?	.	.	.	++	±	.	.	.	.	.	±	+ 1–2	
37	„	Zo.	„	± ?	.	.	.	+	+	.	.	.	.	.	±	±	[4]) In diesem Falle nicht ausgeführt

*) Das Resultat bezieht sich nur auf den Abbau von Menschentestes.

Fortsetzung von Serie II (Gruppe C).

Laufende No.	Datum 1914	Bezeichnung der Sera	Geschlecht	Gehirn	Herzmuskel	Leber	Niere	Testes	(Ri.-Testes)	Placenta	Ovarien	(Ri.-Ovarien)	Carcinom	Struma	Serum allein	Resultat *)	Bemerkungen
38	29. IV.	Lues-Ser. 1	m.	.	.	.	.	++	.	—[1])	.	.	.	.	—	+ 2	[5]) Sarkom
39	4. V.	„ „ 2	„	.	.	.	.	+	.	+ g	.	.	.	.	—	+[1])	[6]) Klinisch anfangs bestehender Carcinomverdacht, später nicht aufrecht erhalten (chronische Gastritis)
40	6. V.	„ „ 3	„	.	.	.	.	+	.	±[1])	.	.	.	.	—	+[1])	
41	7. V.	„ „ ? (4a)	„	.	.	.	.	+ (++)	.	—[1])	.	.	.	.	—?	+ 1–2	
42	8. V.	„ „ 4 b	„	.	.	.	.	++	.	±[1])	.	.	±?	.	—?	+ 2	
43	9. V.	„ „ 5	„	+	.	.	.	+	.	± g	.	.	.	.	±	±	
44	8. V.	Ca.-Serum 1 (Carcinom)	w.	.	.	.	.	+	.	— ?[1])	.	.	+	.	—	+[1])	
45	19. V.	S.[5])	m.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	—?	.	—	+[1])	
46	8. V.	Krankenserum X[6])	w.	.	.	.	.	+++	.	+ (+) g	.	.	—	—	—?	+ 3	
47	4. VI.	Ca.-Serum 2 (Carcinom)	w.	.	.	.	.	.	±?	±[1]) — g	.	.	.	.	—?	.	
48	8. VII.	Se.	„	.	.	.	.	±	.	± g —[1])	±	.	±	.	—	±	Myom ?
49	„	Gü.	„	.	.	.	.	—	.	+ g —[1])	++	.	.	.	—	—	Myom
50	19. VI.	L. Tr.	„	±	—?	—?	—?	.	+ (++)	+ g	.	±	.	.	—	.	Manisch-Depress.
51	„	Ri.	m.	±	+	±	—	.	++	+ g	.	++	.	.	—?	.	„ „
52	26. VI.	Schw.	„	++	.	.	.	+++	.	.	.	+++	.	.	±	+ 2–3	„ „
53	„	Wa.	w.	+++	.	.	.	++	.	.	.	++	.	.	+ (++)	±	„ „
54	6. VII.	Ei.	m.	±	.	.	.	±	.	+ g	.	.	.	.	±?	—?	„ „
55	„	Gr.	„	+?	.	.	.	+	.	+ (++) g	++	.	.	.	±?	±	„ „
56	„	?	„	±	.	.	.	+	.	± g	—?	.	.	.	—?	+[1])	„ „

*) Das Resultat bezieht sich nur auf den Abbau von Menschentestes.

Uebersichtstabelle zur Serie II.

(Substrat: Testes.)

Bezeichnung und Zahl der Blutsera		Stärke der Ninhydrinreaktion + 3	+ 2—3	+ 2	+ 1—2	+ 1	±	—	Mit Einschluß der ± Reagierenden positiv in %	Nach Ausschluß der ± Reagierenden positiv in %	Bemerkungen
1) Praecoxkranke m.	16	1	—	2	1	6	3	3 [1]	81 %	62,5 %	[1]) Die 3 mit menschl. Testes negativ reagierenden Personen gaben mit Rindentestes positive Reaktion
2a) Praecoxverdächtige m.	3	—	—	—	2	—	1	—	100 % (zus. 83 %)	66 % (zus. 66 %)	[2]) Positiv mit Ovarien: 2 von 3, „ „ Testes: 2 von 3 (je 1mal für beide Substrate verschieden)
2b) „ w.	3	—	—	—	—	2	—	1	66 % [2])	66 %	
3) Manisch-Depress. [3]) m.	4	—	1	—	—	1	1	1	80 % (zus. 87,5 %)	40 % (zus. 45 %)	[3]) 2 weitere Sera (No. 50 u. 51) w. gaben mit Rinderorganen ± bzw. ++
w.	1	—	—	—	—	—	1	—			
4) Gravide w.	8	—	1	1	—	1	4	1	87,5 %	37,5 %	
5) Lueskranke m.	6	—	—	2	1	2	1	—	100 %	80 %	
6) Sonstige Kranke m.	1	—	—	—	—	1	—	—	80 %	60 %	
w.	4	1	—	—	—	1	1	1			
7) Gesunde m.	4	—	—	—	—	—	—	4	0 %	0 %	

Bei unseren Versuchen wurden im übrigen die Rindertestes durchaus nicht regelmäßig stärker als die menschlichen Testes abgebaut, sondern teils schwächer, teils stärker.

Was den Abbau sonstiger Organe durch Praecoxserum betrifft, so können wir die Beobachtung bestätigen, daß von ihnen häufig Gehirn angegriffen wird. Andere Organe wurden seltener angegriffen, doch ist in einem Falle Niere stark abgebaut, ohne daß Anzeichen einer Nierenerkrankung vorlagen. Placenta wurde regelmäßig abgebaut, ebenso koaguliertes Rindereiweiß, das wir in mehreren Versuchen „vorlegten" und das von Normalseris kaum angegriffen wurde. Tumorensubstrate wurden weder von Praecoxseris, noch von anderen Krankenseris deutlich angegriffen. Allerdings stehen uns nur wenige Versuche zur Verfügung[1]). Hinweisen möchten wir noch auf eine Erscheinung, die auch von anderer Seite beobachtet wurde, daß die Ninhydrinreaktion bei manchen Versuchsröhrchen (mit Serum) häufig schwächer ausfällt als bei den Kontrollen (Serum allein), so daß man an eine Adsorption der mit Ninhydrin reagierenden Stoffe durch das betreffende Organ denken muß (s. Plaut).

Was unsere Befunde über den Abbau von Ovarien betrifft, so bauten 1 Mann und von 3 Frauen 2 Ovarien ab, eine nicht. Letztere baute aber Testes ab, ebenso eine von den positiv mit Ovarium reagierenden Frauen. Die von anderen Autoren vertretene Anschauung, daß Sera Praecoxkranker nur die Keimdrüsen ihres Geschlechts abbauen, trifft also nach unseren Befunden an Praecoxverdächtigen nicht zu.

Die mit den Seris Nicht-praecoxkranker ausgeführten Untersuchungen zeigten, wie bei oben erwähnten Schwangerschaftsreaktionen, daß auch die Sera sonstiger Kranker positiv mit Hodensubstrat reagierten. Besonders waren es wieder die Sera von Luetikern, welche regelmäßig mehr oder weniger deutlich Testes abbauten. Ebenso reagierten die Sera Gravider in einem hohen Prozentsatz positiv. Allerdings erreichte die Stärke der Reaktion beim Abbau von Testes im großen und

1) Unsere Versuche, inwieweit die Abderhaldensche Reaktion zur Krebsdiagnose brauchbar ist, sind noch nicht abgeschlossen. Auch hier scheinen die verschiedenen Substrate sehr schwankende Resultate zu geben.

ganzen weder bei Verwendung von Gravidenserum noch bei der von Praecoxserum die Grade, wie bei dem Abbau von Placenta durch beide Serumarten. Ferner reagierten mit „Testes“ positiv: 1 Carcinomserum, 1 Sarkomserum und das Serum eines Krebsverdächtigen.

Schließlich konnten wir in Uebereinstimmung mit Bisgaard und Korbsjerg (15) feststellen, daß auch Manisch-Depressive in einem erheblichen Prozentsatz — wenn auch meist in geringerem Grade als Praecoxkranke — Testes abbauten. 2 unter 5 geprüften Seris dieser Kranken gaben auch mit Gehirn eine positive Reaktion.

4 Sera von klinisch gesunden Personen bauten Testes und Gehirn nicht ab. Wir haben auf die Untersuchung normaler Sera weniger Wert gelegt, da die Tatsache, daß völlig gesunde normale Menschen in der Regel keinen nennenswerten Gehalt an Abwehrfermenten besitzen, vielfach festgestellt ist.

Aus unseren Versuchen geht über den Abbau von Testes — ähnlich wie bei den Untersuchungen über Placentaabbau — hervor, daß sich das Serum Gesunder wohl von dem Serum Praecoxkranker unterscheidet. Der negative Ausfall kann bis zu einem gewissen Grade als gegen Dementia praecox sprechend angenommen werden, da Praecoxkranke in hohem Prozentsatz positiv reagieren.

Der positive Befund spricht dagegen nicht unbedingt für Dementia praecox, da auch Sera Nicht-praecoxkranker Testes abbauten. Immerhin kann dem positiven Befund unter Umständen eine gewisse Bedeutung zukommen. Eine Trennung von der Dementia praecox und manisch-depressivem Irresein scheint auf Grund des positiven Ausfalles der Abderhaldenschen Reaktion allerdings sehr unsicher zu sein. Dagegen wäre z. B. eine Differentialdiagnose zwischen Dementia und Paralyse, wie dies auch Schröder (16) hervorhebt, sehr wohl möglich. Wenn z. B. durch das Serum eines Kranken bei negativer Wassermannscher Reaktion Testes abgebaut werden, würde sich dies zweifellos für die Diagnose Dementia praecox verwenden lassen.

Wenn wir uns nun gestatten, im Anschluß an unsere Befunde einige Bemerkungen über die Abderhalden-

schen Fermente und das Dialysierverfahren im speziellen zu machen, so sind wir uns wohl bewußt, daß auf Grund unserer Versuche, die allein mit dem Dialysierverfahren gewonnen sind, Schlüsse über die Bedeutung der „Abwehrfermente“ nur mit einer gewissen Reserve gezogen werden dürfen.

Vor allem möchten wir vorausschicken, daß, wenn im folgenden von „Abbau“ gesprochen wird, damit nicht gesagt sein soll, daß nach unserer Ansicht die mit Ninhydrin reagierenden nachweisbaren dialysablen Eiweißprodukte durchaus den Organen entstammen müssen. Es ist wohl möglich, daß es sich bei der Abderhaldenschen Reaktion um eine Präformation dialysabler Eiweißabbauprodukte oder um eine Präformation fermentativer Funktionen handelt, für deren Manifestwerden man mit Sachs und Nathan (17) physikalische Momente verantwortlich machen könnte [s. auch Plaut (18), Friedemann und Schönfeld (19), Hirschfeld und Klinger (20), De Waele (21)]. Wir möchten aber bemerken, daß wir selbst beim Digerieren mit anorganischen Substanzen (Kaolin) und mit Stärke beim Gravidenserum bisher keine Resultate erhalten haben[1]), welche unbedingt gegen die Annahme sprachen, daß es sich bei der Abderhaldenschen Reaktion um eine Fermentwirkung handelte.

Wir haben auch an die Möglichkeit gedacht, die im Serum etwa präformierten fermentativen Funktionen durch Katalysatoren zu verstärken und in Erscheinung treten zu lassen. Zu diesem Zwecke bedienten wir uns des Platinschwammes. Tatsächlich fanden wir auch in einigen Fällen beim Digerieren von Schwangerenserum im Dialysierschlauch mit Platinschwamm (ohne weiteren Substratzusatz) stärkeres Auftreten von mit Ninhydrin reagierenden Stoffen im Dialysat, als dies in den Kontrollröhrchen[2]) (Serum allein) der Fall war. Der Befund war indessen nicht regelmäßig und versagte z. B. fast ganz bei den Praecoxseris. Wir haben auch sonst

1) Vgl. Berner (28), der ganz negative Resultate erhielt.

2) Nicht uninteressant dürfte in dieser Hinsicht auch eine Zusammenstellung der positiven Ninhydrinreaktionen bei den Kontrollröhrchen (Serum allein) sein. Sie ergibt folgendes Resultat:

Von 40 Gravidenseris	waren:	7 +,	11 ±,	22 —;
„ 16 Carcinomseris	„ :	6 +,	4 ±,	6 —;
„ 23 Praecox- (bzw. -verdächtigen) Seris	„ :	2 +,	11 ±,	10 —;
„ 39 Seris sonstiger Kranken	„ :	9 +,	14 ±,	16 —;
„ 8 Serumproben Gesunder	„ :	1 +,	3 ±,	4 —.

Hiernach waren bei Gesunden (Graviden und Nichtgraviden) 50 Proz. und darüber glatt negativ, bei den Kranken sind dagegen nur 37,5 (Krebskranke) bis 43,5 Proz. (Praecoxkranke) der Sera negativ (im Durchschnitt von allen Kranken = 41 Proz.). Vielleicht läßt dieser Befund den Schluß zu, daß bei den Kranken der Uebertritt plasmafremder Substrate ins Blut häufiger ist, bzw. daß deren Abbau im Blut schlechter erfolgt.

keine sicheren Anhaltspunkte dafür gewonnen, daß es sich bei der Abderhaldenschen Reaktion um eine Präformation fermentativer Funktionen im Serum handelt, die durch physikalische Momente manifestiert werden.

Was nun die eigentliche Frage der Spezifizität der angenommenen Fermente betrifft, so läßt sich eine solche aus unseren Befunden nicht beweisen. Zwar hat sich gezeigt, daß Placenta besonders durch Gravidenserum abgebaut wird, und daß das Serum (männlicher) Praecoxkranker in der Regel Testes abbaut — aber das Gravidenserum baut fast in gleicher Stärke wie die Placenta auch Testes ab; umgekehrt griffen die Sera von Praecoxkranken auch Placenta an. Außerdem zeigte sich, daß diese Substrate auch von den Seris sonstiger Kranke, besonders von Carcinom- und Lueskranken angegriffen wurden, ohne daß bei diesen Kranken Gravidität oder den vorhandenen Fermenten entsprechende Organerkrankungen vorlagen.

Wie aus noch nicht publizierten Untersuchungen von Dr. G. Blumenthal hervorgeht, konnten wir auch bei Tierversuchen uns von einer Spezifizität der Fermente im Sinne Abderhaldens nicht überzeugen. Es ergab sich bei diesen Versuchen nur, daß bei den vorbehandelten Tieren Abbaufermente auftraten, die — ähnlich wie die Organ-Antikörper in den Tierversuchen von Salus (27) — keine Organspezifizität zeigten. Auch wenn die Tiere nicht mit Placenta vorbehandelt waren, wurde gerade dieses Substrat besonders stark abgebaut, woraus wir geschlossen haben, daß die Placenta im allgemeinen ein leicht abbaubares Organ ist.

Durch das reichliche Vorhandensein solcher aspezifischen Fermente könnte die Wirkung spezifischer natürlich verdeckt werden. So weist auch Pincussohn (26) darauf hin, daß neben den spezifischen Fermenten, die ihre Herkunft den Organen verdanken, im Organismus eine ganze Reihe von Fermenten auftreten, die mehr oder weniger unspezifisch und daher in vielen Fällen geeignet sind, das klare Bild zu verwischen.

Allerdings haben auch wir manchmal Befunde erhoben, die für eine Spezifizität der Fermente zu sprechen schienen. Auf die oben erwähnten Befunde beim Abbau von Carcinomsubstraten durch Graviden- und Carcinomsera wollen wir hier nicht näher eingehen, da die Versuche noch nicht abgeschlossen und wegen ihrer geringen Zahl (es gelangten bisher nur einige Gravidensera zur Untersuchung) nicht

beweiskräftig sind. Dagegen könnten die schon erwähnten Resultate mit der Placenta IX scheinbar für eine Spezifizität der Abwehrfermente sprechen. Mit dieser Placenta wurden zunächst 11 Sera (Serie III) untersucht, und zwar bauten nur die 3 Gravidensera[1]) in deutlichem Grade (+1) dieses Substrat ab, während 5 Carcinomsera und 3 Sera sonstiger Kranker gar nicht oder nur in ganz geringem (zweifelhaftem) Grade positiv reagierten, wie aus der kleinen Tabelle V ersichtlich ist. Das Substrat wurde also tatsächlich nur von Gravidenseris so angegriffen, daß eine deutlich positive Reaktion nachweisbar war.

Handelte es sich nun in diesem Falle wirklich um spezifischen Abbau, so wären natürlich alle Substrate, mit denen wir unsere oben erwähnten Befunde erhoben haben, ungeeignet gewesen. Es wäre dann anzunehmen, daß es, wenn auch selten, tatsächlich gelingt, Placenten zu erhalten, die den Anforderungen Abderhaldens entsprechen, ohne daß wir aus unseren Versuchen irgendwelche Anhaltspunkte gefunden hätten, weshalb unter 10 Placenten, die in der gleichen Weise hergestellt wurden, gerade nur eine sich als brauchbar erwies. Aber die Befunde mit der Placenta IX lassen sich auch auf folgende Weise erklären:

Es ist mehr als wahrscheinlich, daß es sich bei dieser Placenta IX um ein schwer abbaubares Substrat gehandelt hat, das auch durch die fermentreichen Gravidensera nur schwer angegriffen wird. Da nun von den Gravidenseris $^1/_3$, von den Krebsseris aber noch nicht $^1/_6$ mit den übrigen Placenten „+3“-Reaktion gaben, so ist es sehr wohl möglich, daß die im allgemeinen an Fermenten reicheren Gravidensera mit der schwer abzubauenden Placenta IX gerade noch eine deutliche Reaktion gaben, während diese bei den weniger fermentreichen Carcinomseris bei der gleichen Dialysezeit noch zweifelhaft war oder negativ blieb. Auch in den oben genannten Befunden mit der Placenta IX wäre damit die Spezifizität der Reaktion nur vorgetäuscht. Tatsächlich verlief auch ein mit 2 Graviden- und 2 Carcinomseris angestellter Versuch, bei dem alle 4 Sera mit dieser Placenta und zugleich mit einem

1) Diese Versuche sind in der Tabelle II (Serie I) nicht mitaufgeführt.

Tabelle IV. (Zu Serie III.)

Lfde. No.	Bezeichnung des Serums	Kontrollröhrchen 1	Kontrollröhrchen 2	Placenta IX-Substrat 1	Placenta IX-Substrat 2	Carcinomsubstrat 1	Carcinomsubstrat 2	Stärke des Abbaues im Vergleich zur Kontrolle bei Plac.-Substrat	Stärke des Abbaues im Vergleich zur Kontrolle bei Carc.-Substrat	Bemerkungen zur Berechnung der Reaktionsstärke
1	Gravidenserum „B“	± ?	± ?	+	++	+++	+++	$1^1/_4$	$2^3/_4$	— = 0
		$^1/_2 : 2 = {}^1/_4$		$^3/_2$		$^6/_2$				± ? = $^1/_4$
2	Gravidenserum „18“	±	±	+	+	++/+++	++/+++	$^1/_2$	2	± = $^1/_2$
		$^1/_2$		$^2/_2$		$^5/_2$				+ = 1
3	Carc.-Serum „Sch“	± ?	± ?	±	fällt aus[1])	+/++	+/++	$^1/_4$	$1^1/_4$	++ = 2
		$^1/_2 : 2 = {}^1/_4$				$^3/_2$				+++ = 3
4	Carc.-Serum „K“	—	±	±	±	++	++	$^1/_4$	$1^3/_4$	
		$^1/_2 : 2 = {}^1/_4$		$^1/_2$		$^4/_2$				

1) Dialysat reagiert mit Almén positiv! Hülsenfehler?

Zeichen-Erklärung: 0 = Ninhydrinreaktion negativ. ± ? = Ninhydrin, Spürchen Blaufärbung? ± = Spur bzw. schwache Blaufärbung. + = deutliche Blaufärbung. ++ = starke Blaufärbung. +++ = sehr starke Blaufärbung.

Tabelle V.

Abbau der Placenta IX. (Serie III.)

8. bis 17. VII. 1914 Bezeichnung der Blutsera	Anzahl	Stärke der Reaktion +2	+1	± ?	—
Carcinomsera	5	—	—	1	4
Gravidensera	3	—	3	—	—
Sonstige Sera: 1 ? = Carcinomserum, 1 ? = Myomserum, 1 Luesserum	3	—	—	1	2
	11		3	2	6

Carcinomsubstrat angesetzt wurden, so, daß die Placenta deutlich von den Gravidenseris, wenig von den Carcinomseris abgebaut wurde; dafür zeigten die Gravidensera aber auch stärkeren Abbau bei dem Carcinomsubstrat (siehe Tabelle IV).

Immerhin möchten wir der Tatsache Rechnung tragen, daß andere Autoren „spezifische" Substrate erhalten haben. Wir wollen deshalb nicht behaupten, daß mit dem Vorkommen spezifischer Fermente im Sinne Abderhaldens überhaupt nicht zu rechnen ist, sondern vorläufig noch die Möglichkeit zugeben, daß infolge der meist ungeeigneten Substrate die Spezifizität der Reaktion in den meisten Fällen nicht zum Ausdruck kommt.

Aber auch die Befunde mancher Autoren, welche aus ihren Versuchen auf eine Spezifizität der Abwehrfermente geschlossen haben, sprechen — soweit sich übersehen läßt — häufig mangels genügender Kontrollversuche nicht zwingend für die Spezifizität der Reaktion. Nach unserer Ansicht beweisen sie meist nur, daß die bei Graviden, bei Kranken und bei Gesunden auftretenden Fermente qualitativ und quantitativ verschieden sind. Die Spezifizität der Reaktion könnte unseres Erachtens durch diese Verschiedenheit der Fermente und das verschiedene Verhalten der Substrate hinsichtlich ihrer Abbaufähigkeit vorgetäuscht sein.

Wie auch die Untersuchungen Saxls (22) zeigen, dürften die bei Schwangeren und Carcinomkranken auftretenden Fermente mehr proteolytischen Charakter haben, im Gegensatz zu den Seris Gesunder, bei denen sich mehr pepsinähnliche Fermente finden[1]). Die ersteren, die natürlich neben peptolytischen auch rein proteolytische Fermente enthalten, wie ihre gleichmäßige Wirksamkeit im Dialysierverfahren und bei der optischen Methode zeigt (Pincussohn), werden die vorgelegten Substrate viel weiter herab abbauen, als die letzteren. Die Folge davon wird natürlich sein, daß man im Dialysat auch nur bei der Verwendung von Serum Gravider und Carcinomkranker in größeren Mengen Abbauprodukte findet, die

1) Die Untersuchungen Saxls schienen uns deshalb auch von Interesse, weil dieser Autor mit ganz anderen Methoden (auf chemischem Wege) den Unterschied zwischen Graviden- und Carcinomserum einerseits, gegenüber dem Serum sonstiger Kranker, bzw. Gesunder andererseits festgestellt hat.

dialysabel sind und mit Ninhydrin reagieren. [Die nahen Beziehungen zwischen Graviden- und Carcinomserum haben übrigens durchaus nichts Befremdendes. Wie Bauer (23) u. a. schon mit Recht hervorgehoben hat, finden sie ein Analogon in einer Reihe anderer biologischer Reaktionen, die beiden Serumarten gemeinsam sind (Steigerung des antitryptischen Titers, Aktivierung der Cobragifthämolyse, Freund-Kaminersche Zellreaktion).] Dazu kommt, daß die Substrate verschieden leicht abbaubar sind. Nehmen wir nun z. B. an, daß ein Gravidenserum, ein Krankenserum und ein Kontrollserum von einer gesunden Person mit verschiedenen Substraten, z. B. der leicht abbaubaren Placenta, und einem weniger angreifbaren Substrat, z. B. der Niere, zusammengebracht werden würden, so würde das Gravidenserum Placenta deutlich, das zweite vorgelegte Substrat, nur schwach angreifen; das Krankenserum (außer Krebsserum) würde vielleicht die Placenta in geringem Grade, die Niere kaum angreifen, da es wenig peptolytische Fermente enthält, während das Kontrollserum wegen seines geringen Gehaltes an allen Fermenten sich beiden Substraten gegenüber negativ verhalten wird. Wählt man statt der Placenta Testes, und statt des Gravidenserums das Serum von Praecoxkranken, das allem Anschein nach ebenfalls reich an proteolytischen und peptolytischen Fermenten ist, so würde dasselbe Ergebnis eintreten und ein scheinbar spezifischer Abbau der Placenta durch Gravidenserum, der Testes von Praecoxserum vorgetäuscht werden. Durch Vertauschung von Testes und Placenta wird man sich indessen leicht von der Unrichtigkeit dieser Anschauung überzeugen können, da Gravidenserum auch Testes und Praecoxserum auch Placenta abbauen wird.

Auch die von einzelnen Autoren erhobenen Befunde über den spezifischen Abbau bei Krankheiten mit Störungen in den Organen mit innerer Sekretion scheinen uns die Spezifizität der Fermente noch nicht sicher zu beweisen. Leider verfügen wir über keine eigenen Erfahrungen nach dieser Richtung hin, doch zeigen die vorliegenden Befunde einzelner Autoren, z. B. die von Czepai (24), daß auch hier die Verhältnisse ähnlich liegen wie bei der Schwangerschaftsreaktion: das Serum von Gesunden baut Organsubstrate innerer Drüsen (außer Thymus) nicht ab, während ein solcher Abbau bei Personen mit Erkrankungen des polyglandulären Systems gefunden wird. Aber bei diesem Abbau wird bald das eine, bald das andere Organ angegriffen, und auch hier sind es gerade Gravidensera, welche häufig innere sekretorische Organe abbauen.

Wir sind also auf Grund der vorliegenden Versuche bisher geneigt, anzunehmen, daß die beim Abderhaldenschen Dialysierverfahren im Dialysat auftretenden Eiweißabbaustoffe aus den Substraten stammen und als Produkte einer Fermentwirkung der Sera anzusehen sind. Wir haben uns aber von einer Spezifizität dieser Fermente weder durch unsere

Untersuchungen noch durch die Versuchsergebnisse anderer Autoren überzeugen können, da, wie gesagt, bei diesen die Spezifizität der Reaktion durch die qualitative und quantitative Verschiedenheit der Fermente vorgetäuscht sein kann. Wir müssen es ferner noch dahingestellt sein lassen, ob nicht durch die in jedem

Kurve 1.

Datum: 18. XI. 13. Bezeichnung: 10-proz. Kochsalzlösung.
Serum H (gesunde Frau).

Fällung		1	2	3	4	5	6	7	8
Grad	Farbe	0,1	0,1/2	0,1/4	0,1/8	0,1/16	0,1/32	0,1/64	0,1/128
0	rot								
1	rotblau								
2	blaurot								
3	violett								
4	dunkelblau								
5	hellblau								
6	weißblau								
7	farblos								

O——O——O Kurve des Goldschutzes bei Röhrchen A: Serum allein (1,5 ccm).
O– – –O– – –O Kurve des Goldschutzes bei Röhrchen B: Serum + 0,5 g Placenta.

Bemerkungen: Die Reaktion ist in der Weise angestellt, daß der Inhalt jeder Dialysierhülse (A und B) mit 5,0 ccm physiologischer NaCl-Lösung ausgespült und die Spülflüssigkeit 20 Minuten scharf zentrifugiert wurde. Von beiden Flüssigkeiten wurden dann Verdünnungen (siehe obige Zahlen) mit physiologischer Kochsalzlösung hergestellt, und zwar kam in Röhrchen 1: 0,2 ccm Abguß + 1,8 NaCl-Lösung; davon in Röhrchen 2: 1 ccm; Verdünnung mit 1,0 ccm NaCl-Lösung und dann wieder Abfüllung von 1,0 ccm in Röhrchen 3 usw.

Serum vorhandenen, gleichzeitig in Funktion tretenden aspezifischen Fermente und durch die große Schwierigkeit, brauchbare Substrate zu erhalten, das Vorhandensein bestimmter spezi-

fischer Fermente verdeckt wird. Auch ist die Möglichkeit gegeben, daß infolge der großen Fehlerquellen des Dialysierverfahrens die Spezifizität der Reaktion nicht in Erscheinung tritt. Dieses hat sich bei unseren Versuchen (in Uebereinstimmung mit den Ergebnissen anderer Autoren) als eine sehr umständliche, mit vielen Fehlerquellen behaftete Methode erwiesen, die

Kurve 2.

Datum: 18. XI. 13. Bezeichnung: 10-proz. Kochsalzlösung.
Serum S (Gravida).

Fällung		1	2	3	4	5	6	7	8
Grad	Farbe	0,1	0,1/2	0,1/4	0,1/8	0,1/16	0,1/32	0,1/64	0,1/128
0	rot								
1	rotblau								
2	blaurot								
3	violett								
4	dunkelblau								
5	hellblau								
6	weißblau								
7	farblos								

Bemerkungen siehe Kurve 1.

aus diesem Grunde für die allgemeine Praxis wenig brauchbar ist. Wenn es nun trotzdem in den Händen verschiedener Autoren bei Laboratoriumsversuchen vielfach durchaus gleichmäßige Resultate ergeben hat, so scheint es doch dringend erwünscht, nach einem Ersatz für diese Methode zu suchen.

Von diesem Gesichtspunkte aus haben wir versucht, das Auftreten von Eiweißabbauprodukten durch die Goldreaktion nachzuweisen. Lange (25) hat schon darauf aufmerksam gemacht, daß bestimmte Eiweißabbauprodukte (die früher so bezeichneten Deuteroalbumosen) ebenso wie ein Elektrolyt wirken und Goldsol ausflocken, und zwar auch in Gegen-

wart von solchen Mengen von Eiweißkörpern, die gegen die Ausflockung schützen. Er hat daher diese Reaktion zum Nachweis von proteolytischen Fermenten vorgeschlagen. Da nun nach den Anschauungen Abderhaldens anzunehmen ist, daß das vorgelegte Substrateiweiß stufenweise durch die Abwehrfermente abgebaut wird, so war nach unserer Ansicht damit zu rechnen, daß im Dialysierschlauch nicht-dialysable Abbaustufen auftreten werden, die, wenigstens zum Teil, sich hinsichtlich der Ausflockung des Goldes ähnlich wie die obengenannten Deuteroalbumosen ver-

Kurve 3.

Datum: 18. XI. 13. Bezeichnung: 10-proz. Kochsalzlösung.
Serum G (Carcinom).

Fällung		1	2	3	4	5	6	7	8
Grad	Farbe		2	4	8	16	32	64	128
0	rot								
1	rotblau								
2	blaurot								
3	violett								
4	dunkelblau								
5	hellblau								
6	weißblau								
7	farblos								

Bemerkungen siehe Kurve 1.

halten würden. Ihr Vorhandensein mußte sich dann daran erkennen lassen, daß der Goldschutz des Serums nach der Bebrütung mit Organsubstraten herabgesetzt wurde. Nach dem Ausfall unserer Versuche scheint dies tatsächlich der Fall zu sein, allerdings nur, wenn die Bebrütung im Dialysierschlauch stattfindet, aus dem die entstehenden dialysablen Endprodukte entfernt werden, und nicht im Reagenzglas. War damit schon die Methode für uns weniger wertvoll geworden, weil wir von der Verwendung von Dialysierschläuchen nicht absehen konnten, so zeigte sich auch noch bei weiteren Versuchen, daß die Ausschläge zwischen Versuchsröhrchen und Kontrolle einerseits, sowie zwischen Gravidenserum und Normalserum andererseits, außerordentlich gering und schwankend waren. Aus diesem

Grunde haben wir die Versuche abgebrochen und können diese Methode zum Nachweis von Eiweißabbauprodukten nicht empfehlen. Wir möchten jedoch bemerken, daß auch bei den wenigen Versuchen, die ein einigermaßen brauchbares Resultat gaben, eine Spezifizität der Fermente nicht nachweisbar war (siehe Kurven).

Zusammenfassung.

I. Gravidensera bauen fast regelmäßig Placenta ab (Abderhaldensche Schwangerschaftsreaktion). Dem positiven Ausfall der Reaktion kann aber nur eine beschränkte diagnostische Bedeutung zugesprochen werden, da auch Krankensera, speziell die von Carcinomkranken, mit Placenta eine positive Ninhydrinreaktion geben. Der negative Ausfall der Reaktion spricht mit großer Wahrscheinlichkeit gegen bestehende Gravidität.

II. Das Serum von dementia praecox-kranken Männern gibt ziemlich regelmäßig mit Testes, oft mit Gehirn, aber stets auch mit Placenta eine positive Reaktion.

Testes werden auch von anderen Krankenseris und von dem Serum Gravider abgebaut.

Der positive Ausfall der Abderhaldenschen Reaktion mit Hodensubstrat ist deshalb ebenfalls nur von beschränkter diagnostischer Bedeutung, wenngleich er unter Umständen vielleicht differentialdiagnostisch verwandt werden kann.

III. Eine Spezifizität der sogenannten „Abwehrfermente“ im Sinne Abderhaldens ließ sich nicht nachweisen.

IV. Das Abderhaldensche Dialysierverfahren ist für die allgemeine Praxis wegen seiner Fehlerquellen nicht zu empfehlen.

Literaturverzeichnis.

1) Abderhalden, E., Abwehrfermente, 2. Aufl., Jena 1913.
2) Fauser, Psych. neurol. Wochenschr., 1913; Deutsche med. Wochenschr., 1913, und Münch. med. Wochenschr., 1913 u. 1914.
3) Otto, R., und Blumenthal, Deutsche med. Wochenschr., 1914.
4) Kjaergaard, S., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 22, 1914, Heft 1, und Referat Centralbl. f. Bakt., Bd. 62, p. 49.

5) Lange, C., Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 17, und Biochem. Zeitschr., 1914, Heft 3 u. 4.
6) Oeller und Stephan, Münch. med. Wochenschr., 1914, p. 12, 75, und Deutsche med. Wochenschr., 1913, p. 2505.
7) Frank, Rosenthal und Biberstein, Münch. med. Wochenschr., 1913, p. 1594.
8) Abderhalden und Schmidt, Hoppe-Seilers Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 85, p. 143.
9) Medizinische Klinik, 1914, Heft 11 u. 12.
10) Parsamow, Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 62, p. 48.
11) Allmann, Deutsche med. Wochenschr., 1914.
12) Michaelis und v. Lagermarck, L., Deutsche med. Wochenschr., 1914.
13) Griesbach, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 18.
14) Fuchs und Freund, Münch. med. Wochenschr., 1914, p. 307.
15) Bisgaard und Korbsjerg, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 27.
16) Schröder, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 28.
17) Sachs und Nathan, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25.
18) Plaut, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 5.
19) Friedemann und Schönfeld, Berl. klin. Wochenschr., 1914.
20) Hirschfeld und Klinger, Berl. klin. Wochenschr., 1914.
21) De Waele, Zeitschr. f. Immunitätsf., 1914, und Comptes rendus de la Soc. Biol., 1914.
22) Saxl, Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 16.
23) Bauer, Medizinische Klinik, 1913, No. 44.
24) Czépai, Wien. klin. Wochenschr., 1914, No. 23.
25) Lange, C., Zeitschr. f. Chemotherapie u. verw. Geb., Bd. 1.
26) Pincussohn, Deutsche med. Wochenschr., 1914, p. 426.
27) Salus, Biochem. Zeitschr., 1914.
28) Berner, Münch. med. Wochenschr., 1914, p. 825.

[Aus der wissenschaftlichen Abteilung des Instituts für Krebsforschung in Heidelberg (Direktor: Exzellenz Czerny).]

Diagnostische Verwertbarkeit und Theorie der Meiostagminreaktion.

Von **Nehemia Blumenthal.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 31. Juli 1914.)

A. Diagnostische Verwertbarkeit.

I. Literaturbericht.

Nachdem Musculus (1) verschiedene chemische Stoffe organischer und anorganischer Natur in bezug auf Oberflächenspannung in kapillaraktive und kapillarinaktive eingeteilt hatte, d. h. solche, die die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen und solche, die, zum Wasser hinzugesetzt, die Oberflächenspannung nicht verändern bzw. sehr wenig erniedrigen oder sogar erhöhen, wiesen Bodländer und Traube (2) im Jahre 1886 auf die Möglichkeit der Unterscheidung normaler und pathologischer Gewebsflüssigkeiten je nach der Kapillaraktivität ihrer Bestandteile hin.

Allein erst nach fast 20 Jahren erschienen die ersten Untersuchungen über die Oberflächenspannung der Gewebsflüssigkeiten von Traube und Blumenthal (3). Sie fanden, daß der Mageninhalt im normalen Zustande bzw. bei leichten Verdauungsstörungen eine viel größere Oberflächenspannung besitzt als bei Carcinom oder bei der Pylorusstenose; allerdings erniedrigte aber der Gehalt an sehr kapillaraktiver Galle die Oberflächenspannung des Mageninhaltes bedeutend. Kunoff (4) fand auch bei gastrischen Krisen, bei Tabes dorsalis und bei einem Fall von Gastritis acuta eine verminderte Oberflächenspannung. Am stärksten war sie aber bei einem Fall von chronischer Nephritis mit Urämie bei einem Moribunden kurz vor dem Tode vermindert. Auch bei experimentell am Kaninchen erzeugter Gastritis [Kascher (5)] wurde eine Erniedrigung der Oberflächenspannung beobachtet.

Aus den Urinuntersuchungen von Traube und Blumenthal (3), Kunoff (4), Kascher (5), Billard (6) folgt, daß die Oberflächenspannung bei den normalen Urinen bei gut arbeitenden Nieren eine viel höhere ist, als diejenige bei pathologisch veränderten Nieren, bei Lebercirrhose, bei schwerer Pneumonie, bei Ovariumcarcinom, bei Carcinom der Gallenblase und bei Lysolvergiftung. Von 2 Fällen bei Lungentuberkulose

war bei einem leichten Fall die Oberflächenspannung dem normalen Zustande gleich, bei einem schweren Fall dagegen stark vermindert.

Auch verschiedene Untersuchungen anderer normaler und pathologischer Körpersäfte, wie Ascitesflüssigkeit (Traube und Blumenthal, Kunoff, Billard), Darmsaft, Pankreassaft [Bickel (7), Zuntz (8), Török (9)], Galle (Traube), Muskelsaft (Bickel) wiesen theoretisch interessante Ergebnisse auf.

Was das Blutserum anlangt, so wurde nur bei Urämie und Ikterus (Bickel, Kascher, Kunoff) eine Erniederung der Oberflächenspannung beobachtet, alle sonst untersuchten normalen wie pathologischen Sera ergaben keine Abweichung von normalen Werten. Auch in der vor kurzem erschienenen Arbeit von Kisch und Remertz (10) wurden sowohl bei Schwangerschaft als auch bei Dementia praecox ebenso wie bei Epilepsie im anfallfreien Stadium, progressiver Paralyse und Taboparalyse normale Werte gefunden. Nur rötlich tingierte Sera zeigten, ebenso wie ein Fall von Status epilepticus und Lebercirrhose, eine deutlich erniedrigte Oberflächenspannung. Auch ich konnte bei Urämie und Ikterus, bei hämolytischen Sera [ebenso wie Iscovesco (11)], aber auch bei Diabetes mellitus und bei normalem Serum gleich nach der Mahlzeit eine verminderte Oberflächenspannung beobachten.

Diese Erscheinung der Erniedrigung der Oberflächenspannung der Körperflüssigkeiten bezogen Traube und Blumenthal auf eine Mehrbildung oder Entstehung von kapillaraktiven Stoffen, von denen vor allem Peptone, dann aber Fettsäuren, Indol, Skatol in Betracht kommen. Diese Stoffe sind aber wahrscheinlich speziell im Blutserum in so geringer Menge vorhanden, daß man ihre Anwesenheit, solange man mit konstanten Flüssigkeiten arbeitet, außer bei schweren Fällen von Urämie, Ikterus und Diabetes mellitus mit den gewöhnlichen Oberflächenspannungsmethoden nicht nachweisen kann.

Es ist zum ersten Male Ascoli (12) gelungen, das verschiedene Verhalten auch der Blutsera nachzuweisen, indem er vor der Messung der Oberflächenspannung die Sera einer bestimmten Behandlung unterzog. Er fand, daß, wenn man zum verdünnten Serum eines Typhuskranken den Alkoholextrakt aus Typhusbacillenaufschwemmung hinzusetzte, eine Oberflächenspannungsverminderung gegenüber dem Gemisch des verdünnten Serums + physiologischer Kochsalzlösung ohne Alkoholextraktzusatz eintrat. Diess Erscheinung kam nicht zustande oder in viel geringerem Maße, wenn man das Serum eines Nichttyphuskranken mit Alkoholextrakt aus Typhusbacillenaufschwemmung behandelte. Ascoli faßte diese Erscheinung als Immunitätsreaktion auf. Der Alkoholextrakt aus Typhusbacillenaufschwemmung sollte als Antigen wirken, dessen spezifische Bestandteile auch im Körper des Typhus-

kranken aus abgestorbenen Typhusbacillen produziert werden. Im Serum des Patienten soll ein Antikörper sich bilden, der bei normalen Menschen fehlt und der, mit Antigen zusammengebracht, eine Oberflächenspannungsverminderung erzeugt. Ascoli untersuchte die Oberflächenspannung der Sera mittels des von Traube (13) im Jahre 1886 angegebenen Tropfenzählers oder Stalagmometers. Die Oberflächenspannungsverminderung geht hier mit Vergrößerung der Tropfenzahl einher. Deswegen nannte Ascoli den Vorgang Meiostagminreaktion (μείων, mehr und σταζω, tropfen).

Mittels dieser Reaktion untersuchten Ascoli und Izar auch Sera von Patienten mit anderen Krankheiten, indem sie zu den Sera spezifische Antigene zusetzten, z. B. bei Tuberkulose, Lues, Ankylostoma- und Echinokokkenkrankheit und zuletzt bei bösartigen Geschwülsten.

Das Antigen für die Untersuchung der Carcinom- bzw. der Sarkomkranken stellten Ascoli und Izar (14) auf folgende Weise dar. Nicht degenerierte Teile der bösartigen Geschwülste wurden zerkleinert, im Mörser zerrieben und zerstampft, dann mehrmals mit Alkohol und Aether teils bei Zimmertemperatur, teils im Brutschrank extrahiert, die Extrakte zum Trocknen eingeengt und aus den vereinigten Rückständen eine gesättigte ätherische Lösung hergestellt. Von dieser Lösung wurde eine Emulsion gemacht, indem man 0,05 ccm der Lösung ins Reagenzglas brachte und dann rasch je nach dem Titer die erforderliche Menge Aqua destillata hinzusetzte und kräftig durchschüttelte. Die Lösung mußte in sehr starken Verdünnungen angewandt werden (1:1000) und mit dem Normalserum einen Ausschlag von nicht mehr als einem Tropfen geben. Das auf diese Weise hergestellte Extrakt war in Toluol, Chloroform, Ligroin, Schwefelwasserstoff, Petroläther, Aether und Methylalkohol löslich, unlöslich dagegen in Aceton und Benzol (15, 16, 17). Später wurde die Methode von Leidi (18) etwas vereinfacht, indem man an Stelle des Aethylalkohols und Aethers Methylalkohol als Lösungsmittel verwendete, da er vor dem Aether den Vorteil bot, daß er einen höheren Siedepunkt und eine vollständigere Emulsionsfähigkeit besaß. Später fanden Micheli und Cattoretti (19), daß auch Hundepankreas zur Herstellung der Antigene brauchbar ist und ebenfalls Stoffe enthält, die mit neoplastischen Sera in derselben Weise reagieren wie das Antigen aus Krebsgeschwülsten. Izar (20) führte die Reaktion mit Rinder- und Kalbspankreas aus. Leidi (18) fand das Extrakt aus Pankreas sogar besser wirksam als das aus Tumoren. Verson (21) erhielt auch mit einem Extrakt aus Kolloidkropf mit Tumorsera gute Ausschläge. Stammler (22) bekam ein ziemlich gutes Extrakt aus einer hypertrophischen Prostata, hingegen aus verschiedenen anderen Organen keine brauchbaren Extrakte. Kelling (23) fand, daß Extrakte aus Hühnerlebern ebenso gute Ausschläge gaben wie Extrakte aus Carcinom. Ungeeignet soll nach Kelling Hundepankreas sein, viel besser dagegen Extrakte aus dem Pankreas vom Rind, Schwein und Huhn. Als vollkommen unbrauchbar erwiesen sich Hoden und Eierstöcke vom Menschen,

Hund und Huhn, sehr kleine Ausschläge gaben die Extrakte von Embryonen vom Menschen, Huhn und Schwein.

Da aber sämtliche Extrakte sich in bezug auf ihre Wirksamkeit als sehr labil erwiesen und in sehr kurzer Zeit nach ihrer Herstellung für die Reaktion unbrauchbar wurden, da weiter die Herstellung der Extrakte mit großen Schwierigkeiten verbunden war, so versuchte man, die aus den Geweben gewonnenen Extrakte durch chemische Verbindungen zu ersetzen. Die Tatsache, daß alkohol- bzw. ätherlösliche Teile der Gewebe für die Reaktion brauchbar waren, wiesen schon darauf hin, welche chemischen Stoffe man zuerst der Untersuchung auf ihre Wirksamkeit unterziehen müsse.

Köhler und Luger (24) setzten die Sera mit Lecithinacetonextrakten (aus Ovolecithin Merck, Lecithin Agfa, Lecithin Richter) an, die sie in wässerigen Verdünnungen verwendeten. Sie fanden, daß auch mit diesen Extrakten Unterschiede in den Ausschlägen bei den neoplastischen und nichtneoplastischen Sera sich nachweisen lassen. Als unwirksam erwiesen sich bei diesen Autoren Cholesterin und seine Verbindungen.

Unabhängig von ihnen bemühte sich Izar (25) zuerst, die Labilität der Gewebsextrakte auf verschiedenem Wege zu beseitigen. Er fand, daß Fällungen aus der methylalkoholischen Lösung mit Aceton, Aethylalkohol, Aether, Benzol, Petroläther nicht stabiler sind, daß Kadmium-, Silber- und Platinsalze aus den Extrakten vollständig unwirksam sind, daß dagegen Fettsäuren aus Geweben wie Kalbspankreas und neoplastischen Geschwülsten, aber auch aus Kakaobutter die Gewebsextrakte vollständig ersetzen können. Auch erwiesen sich die Verbindungen der Fettsäuren und zwar von Myristinsäure mit verschiedenen Eiweißstoffen wie Edestin, Elastin, Kasein, Kyrin, ebenso wie mit Peptonen und Albumosen für die Reaktion nicht weniger brauchbar (26, 27, 28, 29). Eine geringere Reaktion zeigten einfache und gemischte Glyzeride (30) der Myristil-, Linol- und Ricinolsäuren, sie bleiben hinter den entsprechenden Fettsäuren zurück. Vollständig unbrauchbar sind die Mannitester (31), d. h. Verbindungen der Säuren und Mannite, ebenso wie Cholesterinester (32). Zarzycky (33) findet, daß zwar die Acetonlecithinextrakte nicht imstande sind, die aus Carcinom und Pankreas hergestellten Antigene vollständig zu ersetzen, dafür aber wegen ihrer leichten Herstellung und langen Haltbarkeit die Reaktion praktisch leicht ausführbar machen. Köhler und Luger (34) bestreiten die Wirksamkeit der reinen Fettsäuren. Ferrari und Urizio (35) bekamen glänzende Resultate mit Amylalkohollösungen und Benzol-, Toluol- und Xylolemulsionen von Lecithin. Rosenberg (36) bestätigt die Wirksamkeit und hohe Reaktionsfähigkeit des Linol-Ricinolsäuregemisches als Antigens.

In der Tabelle I lassen sich die Resultate der sämtlichen früheren Untersuchungen verfolgen (s. p. 46/47).

Man ersieht aus der Tabelle, daß die Resultate in weiten Grenzen schwanken und am günstigsten bei Ferrari und

Tabelle I.

Autor	Antigen	Ausschlag	Tumoren			Nichttumoren			Bemerkungen	
			Zahl	% +	% —	Zahl	% +	% —	Tumoren —	Nichttumoren +
Ascoli und Izar (14, 15)	Mäuse-Ca. Ratten-Sa.	+ > 2,0 — < 2,0	100	93,0	7,0	103	0,97	99,03	2 Epitheliome 1 Abdominaltumor 3 Cutis-Sa. 1 Mamma-Ca.	Nierensteine
D'Este (37)	Zungen-Ca. Mamma-Ca.	+ > 1,5 — < 1,5	12	91,7	8,3	18	0	100,0	1 Mamma-Ca.	
Michaeli u. Cattoretti (38, 39)	Ca., Sa.	+ > 2,0 — < 2,0	18	88,9	11,1	19	0	100,0	1 Magen-Ca. 1 Colon-Ca.	
Tedesco (40)		.	29	96,3	3,7	33	6,0	94,0		Diabetes im Coma Tuberkul. Pleuritis
De Agostini (17)		+ > 2,0 — < 2,0	27	85,2	14,8	27	0	100,0	1 Mamma-Ca. 1 Magen-Ca. 1 Leber-Ca. 1 Ovarium-Ca.	
Verson (21)		.	18	55,5	44,5	8	0	100,0	2 Uterus-Ca. 2 Oesophagus-Ca. 2 Epitheliome 1 Zungen-Ca.	
Stabilini (41)		+ > 2,0 — < 2,0	32	93,8	6,2	27	0	100,0	1 Magen-Ca. 1 Sarkom	
Kelling (42)		+ > 1,5 — < 1,5	45	47,0	53,0	85	3,5	96,5		Starke Kachexie Ulcus callos. ventr.
Mioni (43)		.	.	78,0	22,0	.	.	.		
Stammler (22)	Rinderpankreas Mamma-Ca. Hoden-Sa. Hundepankreas	+ > 2,0 — < 2,0	119	73,0	27,0	198	20,0	80,0		2 Typhus 5 allgemeine Sepsis 4 Scharlach 2 Diphtherie 3 schwere Verletzg. 3 schwere Verbrennungen 1 Diabetes 1 Osteomyelitis 5 Prostatahypertr. 10 Wa. + 1 Varix 1 Hernie 1 Knochentuberkul.
Leidi (18)	Methylalkoholextrakt aus Ca. und Pankreas	+ > 2,0 — < 2,0	20	80,0	20,0	27	11,5	88,5	1 Mamma-Ca. 1 Trachea-Ca. 1 Uterus-Ca.	1 Ikterus 1 Gravid.

Autor	Antigen	Ausschlag	Tumoren			Nichttumoren			Bemerkungen	
			Zahl	% +	% —	Zahl	% +	% —	Tumoren —	Nichttumoren +
Köhler u. Luger (24)	Lecithinaceton-extrakt	+ > 24 Tlstr. — > 3—8 Teilstriche	27	77,8	22,2	70	2,8	97,2		
Zarzycky (33)	dgl.	+ > 20 Tlstr. — < 5—10 Teilstriche	21	76,2	23,8	36	2,8	97,2		Furunkel und Prostatahypertr.
Köhler u. Luger (34)	dgl.	+ > 19 } Teil- — < 19 } striche	39	76,9	23,1	121	1,6	98,4		
Ferrari u. Urizio (35)	Lecithintoluol-amylalkohol-extrakt	+ > 2,0 — < 2,0	57 41	98,4 97,6	1,6 2,4	30 42	4,0 4,7	96,0 95,3	Uterus-Ca.	Nephritis Progressive Paralyse
Schumowa-Trubina (44)	Carcinom	.	77	70,0	30,0	45	4,4	95,6		Osteomyelitis Erosion d. Cervicalschleimhaut
Rosenberg (36)	Myristilprotein Myristilsäure-gelatineemuls.	+ > 1,5 — < 1,0	20 21	90,0 87,5	10,0 12,5	9 15	11,1 0	88,9 100,0		Pneumonie Lebercirrhose Schwere Lungentbk.
	Linol-Ricenol-säure		11	91,7	8,3	20	10,0	90,0		Diabetes
Brüggemann (45)	Mamma-Ca. Magen-Ca. Rinderpankreas	+ > 1,5 — < 1,5	40	70,0	30,0	30	13,3	86,7		Diabetes Gastroptose Fußtuberkulose Ulcus ventriculi
Halpern (46)	Mamma-Ca. Magen-Ca.	.	46	84,7	15,3	25	8,0	92,0	2 Magen-Ca. 1 Mamma-Ca. 1 Labium-Ca. 3 Ulcus rodens	Lues II Tetanus
Hara (47)	Linol-Ricinol-säure	.	12	75,0	25,0	137	2,9	97,1		Sepsis Pneumonie Adipositas Morb. Basedowi
Roosen und Blumenthal (48)	dgl.	+ > 1,6 ± = 1,4—1,6 — < 1,4	37 31	92,0 96,8	8,0 3,2	. .	. .	. .		
Hara (49)	dgl.	.	32	75,0	25,0	.	.	.		1 Pneumonie 6 Appendicitis 1 Hodgkin. 1 Gesund.

Urizio, am ungünstigsten bei Kelling ausfielen. Ebenso schwanken die prozentualen Verhältnisse der positiv reagierenden Nichttumorsera.

Während Ascoli und Izar unter 103 untersuchten Nichttumorsera nur bei einem Fall von Nierensteinen eine positive Reaktion sahen und die nächsten Nachprüfungen von den italienischen Autoren keinen einzigen Fall von positiver Reaktion bei den Nichttumorsera ergaben, bekam Tedesco (40) zum ersten Male bei Diabetes im Coma und bei tuberkulöser Peritonitis auch eine positive Reaktion. Kelling (42) fand eine solche bei starken nichtcarcinomatösen Kachexien und bei Ulcus callosum ventriculi. Stammler (22), welcher über besonders ausgedehnte Versuche berichtet, bekam eine positive Reaktion bei einer Anzahl von Erkrankungen, und zwar bei Typhus, Sepsis, Scharlach, Diphtherie, bei den schweren Verletzungen, schweren Verbrennungen, Diabetes, Osteomyelitis, Prostatahypertrophie und Lues. Bei Leidi (18) reagierten positiv auch Icterus gravis und Gravidität. Zarzycky (33) bekam eine positive Reaktion bei Furunkel und Prostatahypertrophie und bei allen lipämischen Sera, Ferrari und Urizio (35) bei Nephritis und progressiver Paralyse, Halpern (46) bei Lues II und Tetanus. Rosenberg (36) weist auf die positive Reaktion mit allen von ihm angewendeten synthetischen Antigenen bei Lebercirrhose, Pneumonie, schwerer Lungentuberkulose, schwerem Diabetes und Urämie hin. Brüggemann (45) findet bei Diabetes, Gastrectasie, Fußtuberkulose und Ulcus ventriculi eine positive Reaktion, ebenso wie Schumowa-Trubina (44) bei einer schweren Osteomyelitis und bei einer Erosion an der Cervix uteri. Endlich bekamen Micheli und Cattoretti (51), welche systematische Untersuchungen bei verschiedenen Lebererkrankungen anstellten, regelmäßig bei atrophischer Lebercirrhose, bei akuter Phosphorvergiftung, bei der Hälfte der Fälle der hypertrophischen alkoholischen Lebercirrhose und bei einem Fall von Gallensteinen eine positive Reaktion. Leberlues war immer negativ.

Vergleicht man diese Resultate, so sieht man, daß mit Ausnahme der wahrscheinlich zufälligen und deswegen nur von vereinzelten Autoren angegebenen, positiv reagierenden Krankheiten außer den Carcinomen wie Nierensteinen bei Ascoli und Izar, Tetanus bei Halpern, bei einer ganzen Anzahl von Autoren eine positive Reaktion bei denselben wiederkehrenden Fällen konstatiert wird. Das gilt vor allem für Diabetes, Urämie, verschiedene Formen der Tuberkulose, für Gravidität und fieberhafte Prozesse und oft für Lues. Es handelt sich hier scheinbar meist um Zell- bzw. Gewebszerfall von:

1) eigenem pathologisch verändertem Gewebe (Tuberkulose, Carcinom, Lues, Osteomyelitis, Verbrennung),
2) körperfremdem Gewebe (Gravidität),
3) von Erregern der Infektionskrankheiten,

sei es bei normalen, nur an das Krankhafte grenzenden Zuständen (Gravidität), sei es bei den mit deutlicher Kachexie (Carcinom, Tuberkulose) oder mit Fieber (Pneumonie, Scharlach, Diphtherie) einhergehenden Erkrankungen.

Hiermit wird auch die angebliche Möglichkeit der Reaktionsfähigkeit mit spezifischen Antigenen bei Erkrankungen wie Tuberkulose und Lues u. a. leicht erklärlich. Auch hier handelt es sich um alkohol- bzw. ätherlösliche Substanzen und zwar aus spezifischem Gewebe. Es schwankt hier wahrscheinlich der Gehalt an spezifischen, mit Hilfe der Meiostagminreaktion positiv reagierenden Stoffen und der physikalisch-chemische Zustand des Serums und des Extraktes in anderen, und zwar für jede Erkrankung eigenen Grenzen, so daß es sich hier nur um quantitative Unterschiede handeln dürfte.

Es ist interessant, die bis jetzt erzielten Resultate auch bei anderen Erkrankungen mit Hilfe der Meiostagminreaktion zu verfolgen (Tabellen II—IV).

Tabelle II. Tuberkulose.

Antigen: alkoholätherische Lösung aus Tuberkelbacillenrassen (auf Bouillon oder Agar).

Autor	Ausschlag	Tuberkulose			Nichttuberkulose			Bemerkungen
		Zahl	% +	% —	Zahl	% +	% —	
Izar (52)	$+ > 2{,}0$ $- < 2{,}0$	40	97,5	2,5	74	0	100	
D'Este (37)	$+ > 1{,}0$ $- < 1{,}0$	18	88,9	11,1	11	9	91	und zwar: (Zahl / % + / % —) Lungentuberkul. 5 / 100 / 0 andere Tuberkul. 13 / 84,6 / 15,4 1 Hydrocoele +
Gasbarrini (50)	$+ > 1{,}5$							
im Blut	.	3	100	0	11	9	91	
in serösen Ergüssen	.	6	100	0	11	100	100	
Vallilo (53) im Rinder- u. Schweineserum	$+1 > 1/9$ $-1 < 1/9$	29	100	0	36	2,8	97,2	Antigen: aus Perlsuchtbacillen
Filia (54)	.	30	100	0	20	0	100	Lubentuberkulose, Meningitis tuberculosa, Miliartuberkulose
Roncaglio (55)	.	13	100	0		0	100	
Wyschellesky (56)	Die Meiostagminreaktion liefert außerordentlich widersprechende Resultate. In den einzelnen Fällen gaben sogar tuberkulosefreie Rinder größere Ausschläge als tuberkulöse							
Bucco (57)	Beständige Zunahme der Tropfenzahl bei den an Lungentuberkulose Leidenden							

Tabelle III. Syphilis.

Antigen: Alkoholextrakt aus der Milz des syphilitischen Foetus oder aus spirochätenreicher heredoluetischen Leber.

Autor	Ausschlag	Syphilis			Nichtsyphilis			Bemerkungen
		Zahl	% +	% −	Zahl	% +	% −	
Izar (58)	$+ > 2,0$ $- < 2,0$	12	100	0	14	0	100	
Izar und Usuelli (59)	$+ > 1,5$ $- < 1,5$	90	80	20	104	1,9	89,1	Positiv waren: Erythema nodosum, Lichen ruber plan.
Weinberg (60)	.	3	100	100				
Mihaiesti und Bazzicapulo (66)	.	40	57,5	17,5	± 25			gute Resultate bei Lues I

Autor	Syphilis	Nichtsyphilis
Micheli und Cattoretti (61)		Einige pathologische Sera, besonders einige neoplastische, reagieren positiv
Sensini (62)	Meiostagminreaktion zeigt nicht genug sichere Resultate	
Pasini (63)	74 Syphilissera meist positiv	Alle negativ
Fisichella (64)	Stimmt mit der Wassermannschen Reaktion überein	
Leconte (65)	Keine wesentliche Veränderung der Tropfenzahl	Ab und zu Vermehrung der Tropfenzahl

Tabelle IV. Typhus.

Antigen: Extrakt aus Bakterienaufschwemmung nach Neisser und Shiga.

Autor	Ausschlag	Typhus			Nichttyphus			Bemerkungen
		Zahl	% +	% −	Zahl	% +	% −	
Ascoli (12)	$+ > 2,0$ $- < 2,0$	4	100	0	. 2	0	100	
Vincenzi (67)	.	4	100	0				
Izar (52)	.	9	100	0	18	0	100	
Vigano (68)	$+ > 1,5$ $- < 1,5$	6	100	0				
Micheli und Cattoretti (61)	Sehr geringe Unterschiede im Vergleich zu den nichttyphösen Sera							

Weitere Untersuchungen mit der Meiostagminreaktion wurden von Izar (52) bei Ankylostomum- und Echinokokkenkrankheiten, ebenso wie bei Maltafieber mit sehr gutem Erfolg angestellt.

Ankylostomumkrankheit 6 Fälle, alle positiv; 23 andere Krankheiten alle negativ.

Echinokokkenkrankheit bei 7 Schweinen, 3 Rindern und 1 Kaninchen (experimentell) überall positiv; bei 7 normalen Tieren (Schwein, Rind, Kaninchen) negativ.

Maltafieber (69) (Antigen: wässeriges bzw. alkoholisches Extrakt der Aufschwemmung des Micrococcus melitenis) bei 5 Patienten Meiostagminreaktion positiv, bei 10 anderen Krankheiten negativ.

Ebenso gute Resultate erzielte Silva (70) bei Distomum- und Echinokokkenkrankheit. Sera von allen an Distomiasis leidenden Rindern und Schafen weisen eine Zunahme von 2—3 Tropfen, Sera von an Echinococcus erkrankten 4 Kühen und 8 Schafen zeigen alle mit Alkoholextrakt aus der Cystenmembran oder mit Cystenflüssigkeit als Antigen einen positiven Ausschlag. Negative Resultate bekamen dagegen Weinberg und Jonesco-Mihaiesti (60), bei denen je 8 untersuchte Sera keinen positiven Ausschlag aufwiesen.

Endlich verwendete Alberto Ascoli (71) die Meiostagminreaktion bei der Diagnose von Maul- und Klauenseuche und bekam bei 28 Sera von verseuchten Tieren im Eruptionsstadium 26 (92,8 Proz.) positive Resultate, 2 negative (7,2 Proz.); bei 36 Normalsera 2 positive (5,5 Proz.), 34 (94,5 Proz.) negative Resultate.

Auf ganz anderem Wege kam man zur Verwendung der Meiostagminreaktion für die Diagnose der Schwangerschaft. Zum ersten Male bekam Leidi (18) zufällig bei der Prüfung der Sera auf Carcinome einen positiven Ausschlag bei Gravidität, verbunden mit Magenulcus und Hyperazidität. Ein Jahr darauf untersuchte Julchiero (72) die Schwangerschaftssera auf ihre Reaktionsfähigkeit bei der Meiostagminreaktion mittels Tumor-, Pankreas- und Placentarextraktes als Antigens und fand, daß von 34 Schwangerensera 30 positiv reagierten (88,2 Proz.), 4 negativ (11,8 Proz.), davon 3 in der ersten Hälfte der Schwangerschaft, eine im 9. Monat. 34 Nichtschwangere mit Ausnahme von Carcinom ergaben alle eine negative Reaktion. Es war von keiner Bedeutung, ob man das retroplacentäres oder Armvenenblut zur Untersuchung benutzte. Im allgemeinen erreichten die Ausschläge bei den Schwangerensera nicht so hohe Werte wie bei den Tumorsera.

Köhler und Luger (34) bekamen viel ungünstigere Resultate, indem von 66 Schwangerensera, vom Retroplacentarblut gewonnen, 45 Proz. positiv, 55 Proz. negativ waren. Die Sera von Nabelschnurblut, von denselben Fällen, reagierten immer negativ. v. Subrzycki (73) erhielt bei allen 20 von ihm mittels der Tumorextrakte untersuchten Schwangerensera positive Ausschläge, es stammten aber sämtliche Sera von Schwangeren am Ende der Gravidität. Von 10 Carcinomsera waren 8 positiv, 2 negativ. Es ergaben also die Schwangerensera bessere Resultate als die Carcinomsera. Das Nabelschnurblut reagierte mitunter auch positiv, oft aber auch negativ.

Es bildete also die Schwangerschaft die erste Gruppe, bei der man erkannte, daß sie mit der Meiostagminreaktion,

und zwar mit demselben Antigen wie Carcinom, durchaus positive Resultate lieferte. Deswegen ist die Differentialdiagnose zwischen Gravidität und Carcinom nicht möglich und bei Verdacht auf Gravidität die Reaktion für die Tumordiagnostik nicht verwendbar.

In diesem Sinne zeigte die Meiostagminreaktion eine Aehnlichkeit mit den anderen bis jetzt angegebenen Carcinomreaktionen (antitryptisches Vermögen — Thaler, Salvare; Vermehrung des polypeptiden Stickstoffes — Falk, Hesky; positive Freund-Kaminersche Reaktion — Kraus, v. Graff; positive Calmettesche [Cobragift-]Reaktion — Kraus, v. Graff, Ranzi), die ebenfalls bei der Schwangerschaft eine positive Reaktion aufweisen. Auch mit der ursprünglich als spezifische Schwangerschaftsreaktion angegebenen Reaktion von Abderhalden erhielten viele Untersucher oft ein positives Ergebnis: sowohl Carcinomsera, mit Placenta, wie Schwangerensera, mit Carcinomgewebe angesetzt, gaben positiven Ausschlag.

II. Methodik der Meiostagminreaktion.

Ich habe meine Untersuchungen mit dem Linol-Ricinolsäuregemisch angesetzt. Dazu veranlaßten mich die Publikationen von Izar, die zum Teil während meiner Untersuchungen erschienen, ebenso wie die schriftlichen Mitteilungen von Ascoli. In der Methodik folgte ich besonders in der ersten Zeit genau den letzteren.

Ich bezog die Linol- und Ricinolsäure von Schuchardt in Görlitz in kleinen Mengen und erneuerte sie sogleich, wenn ich merkte, daß ihre Wirkung sich irgendwie veränderte.

Das Linol-Ricinolsäuregemisch wurde nach Ascoli und Izar in einer Lösung von je 1 g Linol- und Ricinolsäure in 50 ccm (Gemisch A) absolutem Aethylalkohol hergestellt. Die von Ascoli für jeden einzelnen Versuch anfangs vorgeschriebene Menge — 0,01 ccm dieses Gemisches — erwies sich zuerst als zu gering und deswegen unbrauchbar, so daß ich mich in der ersten Zeit veranlaßt sah, 0,02 des Gemisches zu verwenden. Es ergaben sich dabei ziemlich gute Resultate; allein infolge des häufigen Vorkommens von positiven Ausschlägen bei nichtcarcinomatösen Fällen, wie Osteomyelitis, schwerer Tuberkulose, Gravidität, versuchte ich nach einiger Zeit, das Linol-Ricinolsäuregemisch in einer schwächeren Konzentration zu verwenden. Nach vorheriger Austitrierung mit Normal- und Tumorsera benutzte ich die Lösung von je 1 g Linol- und Ricinolsäure in 70 ccm absolutem Alkohol (Gemisch B). Am 2.—3. Tag bekam ich viel schlechtere Resultate, indem die Ausschläge der Tumorsera kleiner wurden. Dasselbe wiederholte sich bei der nochmaligen Herstellung des Gemisches

in derselben Verbindung. Ich betrachte die mit dieser Verdünnung gewonnenen Resultate als sehr unzureichend und schließe sie in eine besondere Gruppe ein.

Später bekam ich von Schuchardt Linol- und Ricinolsäure, die in den ursprünglichen Verdünnungen (Gemisch C) eine viel stärkere Reaktionsfähigkeit ergaben, so daß man von den Gemischen zuerst 0,01 ccm für die Reaktion benutzen konnte. Es ergab sich bald eine Abnahme der Wirkung des Gemisches. Es wurde deswegen dann eine konzentriertere Lösung gemacht, indem — anstatt je 0,2 g Linol- bzw. Ricinolsäure in je 10 ccm absoluten Alkohol — 0,2 g Ricinolsäure + 0,5 g Linolsäure in derselben Menge absoluten Alkohols (Gemisch C) verwendet wurde. Diese Verdünnung erwies sich als sicherer und gut brauchbar. Allerdings waren auch jetzt die Resultate nicht so gut wie im Anfang.

Worauf der Unterschied der beiden Säuren in ihrer Wirksamkeit beruht, konnte ich nicht ermitteln.

Ich benutzte also der Reihe nach 4 Verdünnungen des Linol-Ricinolsäuregemisches, von denen ich die zweite (Gemisch B) für die Verwertung der Reaktion wegen der mangelhaften Reaktionsfähigkeit ausschaltete.

Die Methodik, die ich beim Ansetzen der Reaktion verwendete, wurde schon zum Teil in der ersten Mitteilung (Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 12, p. 588) beschrieben.

Es wurde von jedem Serum 1 ccm als Kontrolle angesetzt und zu den anderen mit der Izarschen Kapillarpipette 0,01 bzw. 0,02 ccm des Antigens so hineingetan, daß die Tropfen direkt auf das Flüssigkeitsniveau fielen, ohne die Wandung des Reagenzglases zu berühren. Danach wurde es umgeschüttelt und sowohl zum Kontrollserum als auch zum Serum + Antigen 9 ccm 0,85-proz. Kochsalzlösung hinzugesetzt und nochmals gut gemischt. Darauf wurden die beiden Reagenzgläser auf eine Stunde in das Wasserbad bei 50° gestellt und nach einiger Zeit (2–6 Stunden) bei Zimmertemperatur die Tropfenzahl der beiden Flüssigkeiten mittels des Traubeschen Stalagmometers gezählt.

(Das von mir verwendete Stalagmometer von 55,85 Tropfen für Wasser bei 15° C ergab aber bei 18—19—20° 52,6—53,0 Tropfen für destilliertes Wasser. Als ich den Fehler bemerkte, verglich ich die Werte mit einem anderen neuen Stalagmometer von 52,2 Tropfen für dieselben Flüssigkeiten. Es erwies sich dabei aber kein Unterschied der Tropfenzahl. Da aber das erste Stalagmometer eine geringere Abtropfungszeit besaß, so entschloß ich mich, auch weiterhin das erste zu benutzen.)

Fast sämtliche Sera ergaben bei Zusatz von Antigen eine erhöhte Tropfenzahl. Als negativ wurde die Differenz bis 1,3 inkl., als schwach positiv (±) die zwischen 1,4 und 1,6, als positiv 1,7 und mehr Tropfen bezeichnet.

(Bei der Benutzung von 0,02 ccm des Gemisches C als Antigen nahm ich als $+ > 4{,}5$, $\pm = 4{,}0–4{,}5$, $- < 4{,}0$ Tropfen als Grenzwerte an.)

III. Eigene Untersuchungen mit der Meiostagminreaktion.

a) Mit Hilfe des Linol-Ricinolsäuregemisches.

Die untersuchten Sera stammten aus dem Untersuchungsmaterial der serologischen Abteilung des Instituts für Krebsforschung und kamen meist aus dem Samariterhause, aus der medizinischen, chirurgischen und Frauenklinik und aus der medizinischen Poliklinik der Universität Heidelberg, sowie von einigen Aerzten.

Es wurden von mir im ganzen 315 Sera untersucht. Davon waren:

Klinisch sichere Carcinome		106
„ unsichere Carcinome		24
Normale		20
Gravidität		27 [1])
Verschiedene andere Erkrankungen		117
Davon: Sarkom	19	
Tuberkulose	19 [2])	
Syphilis	19 [3])	
Chronische Knochenentzündung	4 [4])	
Verschiedene andere Erkrankungen	56 [5])	
Ohne Diagnose		5
Mit schwachem Antigen angesetzt		19

Von 106 Carcinomfällen wurden 102 Blutsera, 3 Exsudate (2 Ascitesflüssigkeiten — Ca. peritonei und Ca. ovarii und 1 Pleuraexsudat, Ca. pleurae) und 1 Punktat aus einem erweichten Carcinom (Ca. pharyngis) untersucht.

Von 19 Carcinomrezidiven nach Operationen waren:

+	±	—
12 (63,1 Proz.)	3 (15,8 Proz.)	4 (21,1 Proz.)
5 Ca. uteri	2 Ca. cutis	2 Ca. uteri
5 Ca. mammae	1 Ca. mammae	1 Ca. cutis
1 Ca. gl. thyreoideae		1 Ca. mammae
1 Ca. recti		

Von 4 negativ reagierenden Mammacarcinomen waren 2 operierte Carcinome ohne Rezidive (das eine vor 7 Monaten, das andere vor einem Jahre operiert), 2 mit Rezidiven (das eine vor 10 Monaten operiert — geringe Drüsenschwellung, — das andere vor ca. 2 Jahren operiert — Drüsenschwellungen, Pleuritis, aber Zunahme an Gewicht).

Dazu kommen:

1) + 4 mit schwachem Antigen, alle +.

2) + 1 + Gravidität.

3) + 5 (3 + Carcinom, 1 + Gravidität, 1 + Wochenbett).

4) + 4 (3 + Tuberkulose, 1 Gelenkauftreibung).

5) + 3 (Verdacht auf Syphilis, WaR. —).

1. Maligne Tumoren.

a) Klinisch sichere Carcinome.

Tabelle V.

No.		Klinische Diagnose	Gemisch A 0,02 ccm		Bemerkungen
			Ausschlag	Resultat	
1	1261	Ca. oesophagi	2,7	+	kl.
2	1275	Ca. ventriculi	2,8	+	op.
3	1273	Ca. hepatis	2,1	+	kl.
4	1281	Ca. recti	1,7	+	kl.
5	1277	Ca. oesophagi	1,7	+	kl.
6	1276	Epitheliom des Kopfes	1,6	.	kl.
7	1274	Ca. ventriculi	2,3	+	kl.
8	1279	Ca. uteri	2,6	+	op.
9	1291	Ca. recti ulc.	1,9	+	kl.
10	1301	Ca. recti, Rez.	1,9	+	an.
11	1302	Ca. mammae, Rez.	2,1	+	an.
12	1305	Ca. recti	2,4	+	an.
13	1312	Struma maligna, Rez.	2,6	+	op.
14	1314	Ca. recti	2,3	+	an.
15	1316	Ca. mammae ulc.	3,1	+	an.
16	1324	Ca. uteri	1,6	.	kl.
17	1334	Ca. mammae	1,8	+	an.
18	1346	Ca. orbitae et pharyngis	1,8	+	kl.
19	1364	Ca. recti	2,4	+	kl.
20	1365	Ca. oesophagi	2,5	+	kl.
21	1306	Ca. recti	1,8	+	kl.
22	1375	Ca. mammae, Rez.	1,8	+	op.
23	1376	Ca. ventriculi	2,7	+	kl.
24	1406	Ca. recti	1,9	+	kl.
25	1408	Ca. vaginae post Ca. uteri	2,2	+	an.
26	1420	Ca. linguae, WaR. +	2,0	+	kl.
27	1419	Ca. oesophagi	1.9	+	kl.
28	1423	Ca. oesophagi	2,5	+	kl.
29	1425	Ca. recti	2,3	+	kl.
30	1440	Ca. peritonei, Ascitesflüssigk.	4,6	+	kl.
31	1446	Ca. ventriculi	2,6	+	kl.
32	1447	Ca. mammae op., jetzt Ca. pulm.	2,8	+	op.
33	1450	Epitheliom	1,3	—	kl.
34	1460	Ca. recti	1,9	+	kl.
35	1461	Ca. maxillae, Rez.	1,4	.	hl.
36	1469	Ca. labii	1,9	+	kl.
37	1470	Lupus carcin.	2,4	+	kl.
38	1471	Epithelioma linguae	1,9	+	an.
39	1476	Ca. ventriculi	1,8	+	kl.
40	1493	Ca. ventriculi	2,4	+	kl.
41	1508	Ca. linguae op., WaR. +	1,2	—	op.
42	1513	Ca. uteri	1,8	+	kl.
43	1514	Ca. ventriculi	2,1	+	kl.
44	1518	Ca. cardiae	3,0	+	op.
45	1519	Ca. cardiae	2,5	+	op.
46	1523	Ca. coli	1,7	+	kl.
47	1531	Ca. pulmonum et hepatis	2,4	+	kl.

kl. = klinisch sicher; op. = per operationem sicher; an. = anatomisch bzw. histologisch sicher; · = ± (zweifelhaft).

No.		Klinische Diagnose	Gemisch A 0,02 ccm		Bemerkungen
			Ausschlag	Resultat	
48	1540	Ca. uteri, Rez.	1,3	—	kl.
49	1536	Ca. mammae	1,9	+	op.
50	1568	4 Tage post. op. Epitheliom	1,4	.	kl.
51	1569	Lupus carcin.	2,1	+	kl.
52	1582	Ca. mammae, Rez.	2,3	+	op.
53	1602	Lupus carcin.	2,7	+	kl.
54	1606	Ca. pharyngis	1,9	+	an.
55	1602	dasselbe (Punktat)	2,9	+	an.
56	1627	Ca. prostatae inop.	2,2	+	kl.
57	1644	Ca. recti	2,0	+	kl.
58	1640	Ca. ovarii	1,4	.	an.
59	1642	Ca. faciei	2,9	+	kl.
60	1645	Ca. uteri, Rez.	3,2	+	op.
61	1645	Ca. uteri post op., Rez.	1,7	+	op.
62	1665	Ca. mammae, Rez.	2,8	+	kl.
63	1666	Ca. mammae, Rez.	2,4	+	kl.
64	1726	Ca. mammae post op., kein Rez.	1,2	—	op.
65	1734	Ca. hepatis Icterus, gravis	2,5	+	kl.
66	1738	Ca. mammae, Rez.	1,0	—	kl.
67	1725	Melanoepitheliom	0,6	—	an.
68	1741	Ca. linguae, WaR. +	1,7	+	kl.
69	1728	Ca. mammae	2,1	+	an.
70	1757	Ca. mammae, kein Rez.	0,9	—	kl.
71	1758	Ca. der Submaxillargegend	1,4	.	an.
			Neues Antigen 0,01 ccm		
72	1759	Ca. mammae	2,3	+	kl.
73	1766	Ca. mammae, Rez.	1,9	+	kl.
74	1773	Ca. ventriculi	2,1	+	kl.
75	1785	Ca. ovarii	1,9	+	an.

			Gemisch C[1]					
			0,01 ccm			0,02 ccm		
			Ausschlag	Resultat	Bemerk.	Ausschlag	Resultat	Bemerk.
76	1784	Ca. recti	0,8	—	kl.			
77	1805	Ca. ventriculi	1,5	.		6,8	+	kl.
78	1808	Epitheliom, Rez.	1,0	—		3,1	—	kl.
79	1810	Pleuraexsudat, Ca. pleurae	1,9	+		9,2	+	kl.
80	1814	Ca. prostatae	1,4	.		5,5	+	kl.
81	1808	Ca. uteri	0,9	—		2,0	—	an.
82	1840	Ca. oesophagi				3,3	—	kl.
			Gemisch D 0,01 ccm					
83	1848	Ca. portionis et cervicis	2,9	+		5,9	+	an.
84	1849	Ca. uteri	1,0	—		3,8	—	an.
85	1845	Ca. uteri post op., Rez.	2,1	+		4,1	+	op.

1) 0,02 ccm Gemisches C ($+ > 4{,}5$; $\pm = 4{,}0$—$4{,}5$: $- < 4{,}0$).

No.		Klinische Diagnose	Gemisch D 0,01 ccm			Gemisch C 0,02 ccm		
			Ausschlag	Resultat	Bemerk.	Ausschlag	Resultat	Bemerk.
86	1861	Epithelioma nasi	1,1	—	kl.			
87	1862	Ca. tonsillae	3,1	+	kl.			
88	1879	Ca. ventriculi	2,3	+		5,1	+	kl.
89	1884	Ca. oesophagi	2,4	+		5,0	+	kl.
90	1903	Ca. cardiae	2,6	+		7,0	+	kl.
91	1909	Ca. uteri, Rez.	2,0	+		5,7	+	op.
92	1910	Ca. colli	1,2	—		3,8	—	op.
93	1915	Ca. ventriculi	4,0	+		10,4	+	kl.
94	1921	Ca. mammae post op., Drüsenschwellungen	1,6	.		4,0	+	op.
95	1922	Ca. uteri	1,6	.	an.			
96	23	Ca. mammae	1,8	+	kl.			
97	24	Ca. ventriculi	1,8	+	kl.			
98	40	Epitheliom	1,5	.	kl.			
99	92	Ca. linguae	1,1	—	kl.			
100	100	Struma maligna	3,9	+	kl.			
101	119	Epitheliom, Rez.	1,6	.	kl.			
102	29	Pleuritis carcinomatosa, Ca. mammae op. Zunahme an Gewicht	1,0	— —	kl.			
103	121	Epitheliom	1,4	.	kl.			
104	122	Ca. cardiae	1,1	—	kl.			
105	139	Ca. oesophagi	2,1	+	kl.			
106	169	Epitheliom	2,0	+	kl.			

Von 106 klinisch sicheren Carcinomen, zum Teil durch Sektion oder Operation bestätigt, waren:

	+	±	—
	78 (73,5 Proz.)	11 (10,4 Proz.)	17 (16,1 Proz.)
Davon sind:			
Ca. linguae	3		2
„ labii	1		
„ tonsillae	1		
„ pharyngis	3		
„ oesophagi	7 (87,5 Proz.)		1 (12,5 Proz.)
„ ventriculi	15 (93,75 „)		1 (6,25 „)
„ recti	11 (91,7 „)		1 (8,3 „)
„ coli	1		
„ peritonei	1		
„ pulmonis	1		
„ pleurae	1		
„ ovarii	1	1	
„ mammae	12 (71,6 Proz.)	1 (5,9 Proz.)	4 (23,5 Proz.)
„ uteri	8 (57,1 „)	2 (14,3 „)	4 (28,6 „)
„ vaginae	1		
„ prostatae	2		
„ cutis	5 (31,25 Proz.)	7 (43,75 Proz.)	4 (25,0 Proz.)
„ hepatis	2		
„ gland. thyreoideae	2		
Es sind also			
Ca. des Magendarmtraktus	37 (92,5 Proz.)		
„ „ weibl. Genitaltrakt.	10 (58,8 „)	3 (17,6 Proz.)	4 (23,6 Proz.)

Aus Tabelle V ergibt sich also eine gute *Verwendbarkeit der Meiostagminreaktion für die Carcinome des Magen-Darmtraktus*, eine geringere für diejenigen der Mamma (81,2 Proz. +, 6,3 Proz. ±, 12,5 Proz. —), wenn man von den rezidivfreien Fällen absieht, eine geringe Verwendbarkeit für die Carcinome des weiblichen Genitaltraktus, absolut keine Verwendbarkeit für die Hautcarcinome. Von diagnostischem Wert ist also die Meiostagminreaktion für die Carcinome des Magen-Darmtraktus, zumal eine Reihe von *differentialdiagnostischen in Frage kommenden Erkrankungen*, wie später gezeigt wird, *negativ reagieren* (wie Magenulcus und Gastroptose), von geringem diagnostischen Wert für die Carcinome des weiblichen Genitaltraktus. Keinen Wert hat die Meiostagminreaktion für die Hautcarcinome, Carcinome der Zunge, aber auch nicht für den Leberkrebs, da auch Lebercirrhose meist eine positive Reaktion ergibt.

b) Klinisch unsichere Carcinome.

Tabelle VI.

	No.	Klinische Diagnose	Gemisch D 0,01 ccm		Gemisch A 0,02 ccm		Gemisch C 0,02 ccm	
			Ausschl.	Resultat	Ausschl.	Resultat	Ausschl.	Resultat
1	1267	Ca. pancreatis?			3,4	+		
2	1271	Rückenmarkstumor Ca.?			2,1	+		
3	1330	Blasenpolyp oder Ca.?			1,9	+		
4	1358	Ca. pleurae?			2,3	+		
5	1445	Suspicium Ca. ventriculi, Achylia gastrica			1,4	.		
6	1474	Suspicium carcinomatis, Anaemia perniciosa			2,0	+		
7	1550	Suspicium Ca. pylori			2,6	+		
8	1608	Ca.?			3,1	+		
9	1610	Ulcus ventric.? Anazidität, Gewichtsabnahme			1,8	+		
10	1624	Suspicium Ca. cardiae			2,3	+		
11	1775	Mediastinaltumor			2,4	+		
12	1867	Ca. uteri? Histologisch kein Ca.	1,8	+			4,6	+
13	1869	Ca. hepatis?	1,5	.			3,7	—
14	1887	Ca. ventriculi?	1,0	—				
15	1919	Myomatosis uteri, maligne Degeneration?	2,5	+			6,1	+

No.		Klinische Diagnose	Gemisch D 0,01 ccm		Gemisch C 0,02 ccm	
			Ausschl.	Resultat	Ausschl.	Resultat
16	1925	Ca. uteri? Histologisch Adenopolymorphie	1,7	+	4,4	.
17	12	Ca. ventriculi?	1,8	+		
18	21	Retroperitonealer Tumor	2,0	+		
19	65	Ca. ovarii? Ascitesflüssigk.	6,4	+		
20	68	Ca. ventriculi?	2,3	+		
21	72	Ca. mammae. Histologisch Fibro-adenoma	2,2	+		
22	131	Ca. ventriculi?	1,8	+		
23	154	Ca. der Gallenblase	1,6	.		
24	157	Ca. ventriculi?	2,5	+		

Von 24 sind:

	+	±	—
	20 (83,3 Proz.)	3 (12,5 Proz.)	1 (2,4 Proz.)
Darunter sind 20, bei denen weitere Angaben fehlen:			
	16 (80,0 Proz.)	3 (15,0 Proz.)	1 (5,0 Proz.)
Davon sind:			
Ca. ventriculi	7 (77,8 Proz.)	1 (11,1 Proz.)	1 (11,1 Proz.)
Ca. hepatis		2	
Ca. pancreatis	1		
Ca. pleurae	1		
Mediastinaltumor	1		
Ca. uteri	1		
Ca. vesicae urinae	1		
Retroperitonealtumor	1		
Ca. ovarii	1		
Ca. medullae spinalis	1		
ohne Angabe der Lokalisat.	1		

In 4 Fällen stimmten die Resultate der Meiostagminreaktion mit der klinischen Diagnose nicht überein, und zwar war Meiostagminreaktion positiv, wo klinische Anhaltspunkte für einen malignen Tumor waren, die sich jedoch anatomisch nicht bestätigten. Ich bringe hier einen kurzen Auszug aus den Krankengeschichten dieser Fälle:

1474. R. H. Diagnose: Suspicium carcinomatis. In Weiterentwicklung Anaemia perniciosa. M.R. = + 1,9

1867. R. R. Diagnose: Ca. corporis uteri? Patientin ist sehr anämisch, hat keine Schmerzen. Bei der Operation der Schenkelhernie fand man am Peritoneum Knötchen, die anatomisch als tuberkulöser Natur sich erwiesen. Uterusschleimhaut bei Abrasio normal. Säurewerte des Mageninhaltes auch normal. M.R. = + 1,8

1925. M. B. Diagnose: Ca. corporis uteri? Corpus uteri hart und derb. Anatomisch Adenopolymorphie der Uterusschleimhaut. M.R. = + 1,7

72. W. B. Diagnose: Knoten in der Mammaexstirpation. Anatomisch Fibroadenoma mammae. M.R. = + 2,2

Der Ausfall der Meiostagminreaktion bei diesen 4 Fällen setzt, wenn nicht vollständig, so doch in ziemlich hohem Maße ihre Verwertbarkeit bei dieser Gruppe von Carcinomen herab, obschon die Richtigkeit des klinischen Verdachtes durch den histologischen Befund nicht vollständig ausgeschlossen wird.

Andererseits sind aber Fälle vorhanden, bei denen der Kliniker mit dem Ausfall der Reaktion rechnen konnte. Das gilt für die Carcinome des Magen-Darmtraktus. Von vielen solchen Fällen greife ich 4 Beispiele heraus, die ohne Diagnose aus der medizinischen Klinik kamen.

			Differenz	Resultat	Diagnose
1902	M.R.	M.R. = +	1,0	—	Darmblutungen
1903	Ph.R.	M.R. = +	2,6	+	Ca. cardiae per operat. bestätigt
1914	G.K.	M.R. = +	1,0	—	neurasthen. Magenbeschwerden
1915	D.H.	M.R. = +	4,0	+	Ca. ventriculi

Sarkome.

Tabelle VII.

No.		Klinische Diagnose	Gemisch A 0.02 ccm		Bemerk.
			Ausschl.	Resultat	
1	1252	Retropharyngeales Sarkom. Rec.	0,8	—	an.
2	1280	Periostales Sarkom	0,2	—	op.
3	1292	Retrvpharyngeales Sarkom	1,3	—	an.
4	1296	Sarkom. Rec.	1,4	.	op.
5	1310	Lymphomata coli-Sarkom?	2,8	+	
6	1317	Sarkom am Beine	1,4	.	an.
7	1328	Osteosarcoma mandibulae	1,3	—	op.
8	1362	Lymphosarkomatose	1,9	+	kl.
9	1424	Hypernephrom? Sarkom?	4,8	+	
10	1451	Lymphosarkom	1,3	—	kl.
11	1478	Sarkom der Rippe	2,0	+	an.
12	1533	Lymphosarkom	1,3	—	kl.
13	1537	Sarcoma maxillae	1,3	—	kl.
14	1567	Tumor am Os sacrum	1,4	.	

No.		Klinische Diagnose	Gemisch D 0,01 ccm Ausschl.	Resultat	Bemerk.	Gemisch C 0,02 ccm Ausschl.	Resultat	Bemerk.
15	1815	Sarc. femoris				4,0	.	kl.
16	1841	Sarc. femoris				3,4	—	kl.
17	1928	Sarc. ossis sacri?	1,3	—		3,9	—	
18	34	Osteosarc. sacri	2,0	+	kl.			
19	93	Epulis	1,5	.				

Untersucht wurden: 19 Sera von 18 Patienten (von einem Patienten wurde das Blut 2mal entnommen); unter ihnen ein Fall mit Hypernephrom oder Sarkom und ein Fall mit Verdacht auf Sarkom. Davon reagierten:

4 (21,1 Proz.) + 5 (26,3 Proz.) ± 10 (52,6 Proz.) —

Die meisten negativ reagierenden Fälle gaben einen Ausschlag von 1,3 Tropfen. Es ist also die Meiostagminreaktion für die Diagnostik der Sarkome nicht verwendbar.

Gravidität.

Tabelle VIII.

No.		Klinische Diagnose	Gemisch A 0,02 ccm Ausschlag	Resultat
1	1325	Mens IX, X	2,2	+
2	1326	„ IX, X	2,3	+
3	1353	„ IX, X	2,0	+
4	1369	„ III, IV	2,4	+
5	1385	„ IX	2,1	+
6	1386	„ X	1,7	+
7	1387	„ X	2,9	+
8	1888	Grav. incip.	2,4	+
9	1434	Mens IX, X	2,6	+
10	1439	„ V + Lues	1,2	—
11	1453	„ III	1,8	+
12	1462	„ IX, X	3,1	+
13	1463	„ IX, X	2,9	+
14	1487	Gravidität?	1,6	.
15	1497	Mens IX	2,4	+
16	1498	Abortinkomplett	1,9	+
17	1527	Mens III	1,9	+
	1691	„ VII + Osteomalacie	1,8	+
20	1710	Mens VIII	1,7	+
21	1711	„ VIII	2,0	+
22	1714	Wochenb. 7. Tag	2,0	+

No.		Klinische Diagnose	Gemisch D 0,01 ccm Ausschlag	Resultat	Gemisch C 0,02 ccm Ausschlag	Resultat
23	1866	Mens VIII	2,4	+	5,2	+
24	1870	Wochenbett, 10. Tag	2,1	+	6,5	+
25	1896	Mens IX, X	2,0	+	6,0	+
26	1918	„ III	2,1	+	5,0	+
27	1927	„ II	2,2	+	4,3	.
28	31	„ III + Tbc.	1,8	+		
29	44	Gravid. incip.	1,9	+		
30	46	Wochenbett 9. Tag + Lues + Nephritis	6,0	+		
31	116	Mens I	1,9	+		

Von 31 Fällen (von denen 4 mit sogar schwachem Antigen angesetzte positiv reagierten) sind:

29 (93,6 Proz.) + 1 (3,2 Proz.) ± 1 (3,2 Proz.) —

(± Verdacht auf Gravidität und Osteomalacie, — Gravidität im 5. Monat mit Lues).

Klinisch sicher waren 25 Graviditäten, und zwar 15 in den letzten Monaten der Schwangerschaft (alle positiv), 10 in der ersten Hälfte der Schwangerschaft (9 +, 1 — mit Lues), 3 Wöchnerinnen (im 7.—10. Tag nach der Geburt) alle positiv, 1 Abort +, 2 fragliche Graviditäten: eine +, eine ±.

Dem gegenüber stehen 2 Fälle, die mit einem Verdacht auf Abort kamen; die Meiostagminreaktion war bei beiden Fällen negativ — die histologische Untersuchung der Uterusschleimhaut ergab normalen Befund.

Es hatte also die Meiostagminreaktion einen praktisch diagnostischen Wert für die Schwangerschaft mit der Einschränkung, daß das Serum nur von gesunden, nicht mit bösartigen Geschwülsten oder mit schwerer Tuberkulose usw. behafteten Frauen stammen darf. Erwähnt sei hier auch ein Fall, bei dem das Serum während der Menstruation positiv reagierte.

2. Normalsera.

Tabelle IX.

No.		Gemisch A 0,02 ccm		No.		Gemisch D 0,01 ccm		Gemisch C 0,02 ccm	
		Ausschlag	Resultat			Ausschlag	Resultat	Ausschlag	Resultat
1	1327	0,9	—	15	—	0,9	—	2,4	—
2	1351	1,2	—	16	—			2,6	—
3	1383	1,1	—	17	1876	0,7	—	2,5	—
4	1415	0,8	—	18	19	0,8	—		
5	1438	0,9	—	19	101	0,8	—		
6	1454	1,2	—	20	—	0,9	—		
7	1494	1,2	—						
8	1501	0,9	—						
9	1511	1,5	.						
10	1530	1,3	—						
11	1590	0,9	—						
12	1611	1,2	—						
13	1663	0,8	—						
14	1740	0,9	—						

Von 20 waren 0 positiv, 1 (No. 9 der Tabelle) (5 Proz.) schwach positiv, 19 (95 Proz.) negativ. Von diesen 20 untersuchten Sera sind 2 Sera

von 2 Fällen zweimal untersucht, und zwar im Zeitintervall von ca. 4 Monaten. Es geben alle Normalsera mit Ausnahme von einem (1,5 Proz. ±) einen Ausschlag von 0,7—1,3 Tropfen.

3. Sonstige Erkrankungen.

a) Tuberkulose.

Tabelle X.

No.		Klinische Diagnose	Gemisch A 0,02 ccm		Bemerkungen	No.		Klinische Diagnose	Ge misch D 0,01 ccm	
			Ausschlag	Resultat					Ausschlag	Resultat
1	1256	Gonitis tbc.	0,8	—	.	13	1839	Affectio apicis.	2,6	—
2	1201	Tbc. d. pulmonis	1,0	–	kl.			Tbk.-Bacillen —		
3	1295	Knochentuberk.	0,9	—	kl.	14	91	Drüsentuberk.	0,9	—
4	1290	Lupus der Hand	0,2	—	kl.	15	85	Tbc. pulmonum	3,0	+
5	1534	Coxitis (tbc.?)	2,1	+	.			Tbk.-Bac. +++		
6	1535	Gonitis (tbc.?)	2,2	+	.	16	96	Affectio apicis	1,2	—
7	1541	Tbc. pulmonis	4,6	+	an.			Tbk.-Bacillen —		
		u. Amyloidose				17	106	Tbc. pulmonum	3,1	+
8	1589	Peritonitis und	2,8	+	kl.			Tbk.-Bac. +++		
		Pleuritis tbc.				18	136	Tbc. pulmonum	2,5	+
9	1623	Tbc. pulmonum	3,4	+	kl.			Tbk.-Bac. +++		
		Tbk.-Bacillen +				19	155	Tuberkulose	1,9	+
10	1735	Tbc. pulmonum	0,6	—						
		Tbk.-Bacillen —								
11	1755	Incip. tbc. pulm.	0,9	—						
		Tbk.-Bac. +++								
12	1756	Incip. tbc. pulm.	1,3	—						
		Tbk.-Bacillen +								

Von 19 Fällen reagierten 9 (47,9 Proz.) +, 10 (52,1 Proz.) —.

Davon waren:	+	—
11 Tubercul. pulmonum	5 (45,5 Proz.)	6 (54,5 Proz.)
3 Gelenktuberkulosen	2 (66,6 „)	1 (33,4 „)
1 Knochentuberkulose		1
1 Pleuritis und Peritonitis tuberculosa	1	
1 Lupus		1
1 Tuberkulose ohne nähere Angaben	1	

Von 11 Lungentuberkulosesera war 1 mit Leber- und Milzamyloid. Alle positiv reagierenden Sera stammen von Patienten mit ausgesprochener Phthise und zahlreichen Tuberkelbacillen im Sputum. Von 6 negativ reagierenden Sera hatten nur 2 Tuberkelbacillen im Sputum. Es reagierte noch eine Schwangere im 5. Monat mit Lungentuberkulose und Bacillen im Sputum positiv.

b) Syphilis.

Tabelle XI.

No.		Klinische Diagnose	Wa.-Re.	Gemisch A 0,02 ccm	
				Ausschlag	Resultat
1	1288	Lues III	—	— 0,1	—
2	1287	„ III	+	0,6	—
3	1241	„ III	+	1,6	.
4	1304	Tabes dorsalis	+	0,7	—
5	1308	Larynxaffektion	+	— 0,1	—
6	1369	Paralyse	+	1,2	—
7	1384	Luesverdacht	—	1,8	+
8	1399	Lues III	+	1,4	.
9	1411	„ III	+	0,9	—
10	1449	Larynxaffektion, Larynxpolyp	—	0,9	—
11	1564	Tabes dorsalis	±	1,5	.
12	1615	Paralyse	±	1,4	.
13	1618	Paralyse (Serum stark hämolyt.)	+	2,0	+
14	1664	Lues II	+	1,2	—
15	1724	Neuritis, früher Lues	—	1,5	.

No.		Klinische Diagnose	Wa.-Re.	Gemisch D 0,01 ccm		Gemisch C 0,02 ccm
				Ausschlag	Resultat	Ausschlag
16	1802	Alte Gonorrhöe, Lues latens	—	.	.	2,0 —
17	1882	Lues cerebrospinalis?	—	1,2	—	
18	1887	Larynxaffekt., Luesverdacht	—	1,0	—	
19	33	Lues, Rachenaffektion	+	1,6	.	

Von 19 Sera reagierten:

2 (10,5 Proz.) +, 6 31,5 Proz.) ± und 11 (58,0 Proz.) —

und zwar

		Wa.-Reaktion	Meiost.-Reaktion +	±	—
3 Verdacht auf Lues		—	1	.	2
1 Lues II		+	.	.	1
7 „ III	2	—	.	.	2
	5	+	.	2	3
2 „ latens		—	.	.	2
2 Tabes dorsalis	1	+	.	.	1
	1	±	.	1	.
3 progr. Paralyse	1	+	1[1]	.	.
	1	±	.	1	.
	1	+	.	.	1

Von den 2 positiv reagierenden Fällen war in einem Fall von Paralyse das Serum stark hämolytisch, im anderen Fall bestand nur ein Verdacht auf Syphilis. Die genaue Diagnose ist nicht bekannt.

Im allgemeinen reagieren die luetischen Sera negativ, überschreiten aber mitunter doch die Grenze.

1) Das Serum war stark hämolytisch.

Außerdem waren unter den Carcinomsera 3 und unter den Schwangerensera 2 mit positiver Wassermannscher Reaktion. Von den ersten waren alle 3 Zungencarcinome (2 +, 1 —), von den zweiten das erste (Gravidität Mens V) negativ, das andere (Wochenbett und Nephritis) stark positiv.

c) Chronische Knochen- und Gelenkentzündungen.

Tabelle XII.

No.		Klinische Diagnose	Gemisch A 0,02 ccm	
			Ausschlag	Resultat
1	1256	Gonitis tuberculosa	0,8	—
2	1268	Gelenkauftreibungen am Knie	1,1	—
3	1203	Gonitis, Osteomyelitis	1,8	+
4	1534	Coxitis (Tuberkulose?)	2,1	+
5	1535	Gonitis (tuberculosa?)	2,2	+
6	1612	Osteomyelitis	2,9	+
7	1625	Osteomyelitis	2,1	+
8	1653	Gonitis	2,3	+

Von 8 Fällen waren 6 (darunter 3 wahrscheinlich tuberkulöser Natur) positiv, 2 negativ.

d) Alle anderen Erkrankungen.

Tabelle XIII.

No.		Klinische Diagnose	Gemisch A 0,02 ccm		Bemerkungen
			Ausschlag	Resultat	
1	1268	Gelenkauftreibungen am Knie	1,1	—	
2	1278	Unfall, Kopfverletzung	1,8	+	
3	1298	Cirrhosis hepatis	0,8	—	
4	1329	Nephrolithiasis	0,9	—	
5	1374	Hautausschlag, Menses, Wa.R. —	1,8	+	
6	1371	Arteriosklerose	1,2	—	
7	1384	Luesverdacht, Wa. —	1,8	+	
8	1410	Acne faciei	0,9	—	
9	1433	Pankreatogene Dyspepsie	0,7	—	
10	1448	Hämorrhoiden, Gastroptose	1,0	—	
11	1449	Larynxpolyp	0,9	—	
12	1489	Pneumonie	1,6	.	
13	1490	Urämie im Coma	2,8	+	
14	1486	Diabetes, Acidose	2,1	+	
15	1532	Hyperazidität	1,1	—	
16	1520	Cirrhosis hepatis	2,1	+	
17	1604	Nierenleiden nach einem Unfall	2,0	+	
18	1721	Kompressionsmyelitis, Sarkom? Tbc.?	1,2	—	
19	1622	Malignes Granulom	2,0	+	
20	1624	Frühere Malaria	1,2	—	
21	1651	Epilepsie	1,2	—	
22	1655	Prostatahypertrophie	1,5	.	an.
23	1743	Gehirnabszeß	1,1	—	an.

No.		Klinische Diagnose	Gemisch C 0,01 ccm Ausschlag	Gemisch C 0,01 ccm Resultat	Gemisch C 0,02 ccm Ausschlag	Gemisch C 0,02 ccm Resultat	Bemerkungen
24	1803	Inguinalhernie	1,1	—	4,0	—	
25	1810	Ulcus cruris			2,4	—	
26	1804	Arteriosklerose			2,2	—	kl.
27	1798	Angina pectoris			2,0	—	kl.
28	1801	Myodegeneratio cordis			3,6	—	
29	1832	Cholelithiasis	0,1	—	3,6	—	
30	1831	Ulcus ventriculi? Psychogene Dyspepsie	0,0	—	3,4	—	
31	1818	Descensus uteri			1,0	—	kl.
			Gemisch D (0,5 g Li, 0,2 g Ri, 10 ccm absol. Alkohol) 0,01 ccm Ausschlag	Resultat	Gemisch C 0,02 ccm Ausschlag	Resultat	
32	1865	Endometritis	1,0	—	2,3	—	an.
33	1860	Cirrhosis hepatis	2,5	+			
34	1877	Endometritis climact.	1,0	—	3,0	—	
35	1885	Ulcus duodeni	1,3	—			
36	1882	Diabetes, Lues cerebrospinalis?	1,2	—			
37	1887	Larynxaffektion, Luesverdacht, Wa.R. —	1,0 1,0	— —			
38	1902	Magen-Darmstörung	0,8	—	3,7	—	
39	1898	Neurasthenie	1,1	—	3,7	—	
40	1911	Myomatosis uteri			2,7	—	
41	1914	Neurasthenische Magenbeschwerden	1,0	—			
42	1920	Unterleibsschmerzen, Adhäsionen?	0,9	—	2,2	—	
43	1913	Essentielle perniziöse Anämie	1,4	.			
44	1926	Cystocele, Metropathia	1,3	—			
45	7	Scharlach	2,5	+			
46	18	Appendicitis	1,3	—			
47	16	Struma benigna	1,0	—			
48	20	Ovarialkystom	1,2	—			
49	26	Cholelithiasis	1,1	—			
50	27	„	1,1	—			
51	32	Epilepsie	0,8	—			
52	42	Anämie	0,9	—			
53	43	Ulcus curis	1,2	—			
54	45	Diabetes mellitus	2,0	+			
55	48	Emphysem	0,7	—			
56	69	Diabetes, Arteriosklerose	3,0	+			
57	94	Psoriasis	1,1	—			
58	104	Ovarialkystom	1,0	—			
59	150	Epilepsie	1,0	—			

Von 56 Sera + 3 mit Verdacht auf Syphilis und negativer Wassermannscher Reaktion waren:

12 (20,4 Proz.) +, 3 (5,1 Proz.) ±, 44 (74,5 Proz.) —.

Positiv waren:

2 Verletzungen,
1 Hautausschlag und Menses, Wa.Reaktion — (wahrscheinlich bedingen die Menses die positive Reaktion),
1 Verdacht auf Lues, Wa.R. —,
1 Urämie im Coma,
3 Diabetes mellitus,
2 Cirrhosis hepatis (das dritte war negativ),
1 malignes Granulom,
1 Scharlach.

± waren: 1 Pneumonie, 1 Prostatahypertrophie, 1 essentielle perniziöse Anämie.

8 Fälle von verschiedenen Magen-Darmaffektionen, Magenulcus, neurasthenischen Magenbeschwerden, Gastroptose, Darmblutungen, Hämorrhoiden waren sämtlich negativ. 3 Fälle von Cholelithiasis ohne Ikterus waren alle negativ, ebenso wie ein Fall von Struma benigna.

Stellen wir alle Fälle von Carcinom- (sichere und unsichere Carcinome) allen Nichtcarcinomsera gegenüber, so bekommen wir:

	+	±	—
Carcinome	98 (75,45 Proz.)	14 (10,75 Proz.)	18 (13,8 Proz.)
Nichtcarcinome (inkl. Gravidität)	59 (35,1 „)	16 (9,5 „)	93 (55,4 „)
Carcinome + Gravidität	127 (78,9 „)	15 (9,2 „)	17 (11,9 „)
Alle anderen Fälle	30 (21,9 „)	15 (11,0 „)	92 (67,1 „)

Viel ungünstiger sind die Ergebnisse bei den Sera, die mit einem schwächeren Antigen angesetzt wurden. Nach schriftlicher Mitteilung von Ascoli verwendete ich eine stärkere Verdünnung des Linol-Rizinolsäuregemisches, indem je 1 g Linol- und Rizinolsäure in 70 ccm absolutem Alkohol aufgelöst wurden. Es wurden für jedes Serum 0,02 ccm des Gemisches benutzt. Dabei bekam ich folgende Resultate:

Tabelle XIV.

Schwaches Antigen.

No.		Klinische Diagnose	Gemisch B 0,02 ccm		Bemerkungen
			Ausschlag	Resultat	
1	1679	Tumor am Unterkiefer, Sarkom?	1,6	.	
2	1680	Ca. mammae, kein Rez., Gewichtszunahme	0,8	—	
3	1693	Struma maligna	1,5	.	kl.
4	1691	Verdacht auf Gravidität, Osteomalacie	1,8	+	
5	1692	Tabes incipiens	1,3	—	kl.
6	1695	Struma maligna	1,7	+	kl.
7	1696	Handgelenktuberkulose	1,3	—	
8	1698	Chronische Osteomyelitis	1,3	—	kl.
9	1700	Suspekt auf Carcinom, keine Metastasen	1,1	—	
10	1703	Normal	1,0	—	
11	1708	Ca. oesophagi	1,0	—	kl.
12	1710	Gravidität Mens VIII	1,7	+	
13	1711	Gravidität Mens IX	2,0	+	
14	1716	Ca. mammae, Rez.	1,5	.	kl.
15	1714	Wochenbett 7. Tag	2,0	+	
16	1712	Tumor hepatis, Wa.R. —	1,3	—	
17	1717	Ca. uteri	1,1	—	
18	1718	Ca. ventriculi?	1,5	.	
19	1719	Nephritis acuta	1,2	—	

Von 19 Fällen waren:

	+	±	—
6 klinisch sichere Carcinome	1 (16,7 Proz.)	2 (33,3 Proz.)	3 (50,0 Proz.)
2 „ unsichere Carcinome		1	1
3 Graviditäten (2 in der 2. Hälfte der Schwangerschaft, 1 im 5. Monat)	3		
1 Wochenbett (5. Tag)	1		

Je ein Fall von Verdacht auf Sarkom, Tabes dorsalis incipiens, Tuberkulose des Handgelenks, chronischer Osteomyelitis, Tumor hepatis (Wa.R. —), Nephritis acuta war negativ.

Wenn ich durch stärkere Verdünnung des Linol-Rizinolsäuregemisches eine negative Reaktion bei Osteomyelitis, Gelenktuberkulose, Tabes dorsalis erzielte, so bekam ich dabei auch eine verminderte Reaktionsfähigkeit bei Carcinom. — Die Schwangerensera aber blieben dabei stets positiv.

b) *Untersuchungen mit Zusätzen und verschiedenen Kombinationen des Linol-Rizinolsäuregemisches.*

Verschiedene Kombinationen der Linol- und Rizinolsäure ergaben meist unzureichende Resultate, entweder zu starke oder zu schwache Ausschläge. Rizinolsäure allein erwies sich als viel wirksamer als die Linolsäure. Mit 0,5 g Rizinolsäure, in 10 ccm absolutem Alkohol aufgelöst, kann man fast dieselben Resultate bekommen wie mit 0,2 g Rizinolsäure + 0,5 g Linolsäure in 10 ccm absolutem Alkohol, dagegen nicht mit der Lösung von 0,5 g Linolsäure allein in 10 ccm absolutem Alkohol. Es wirkt also die Linolsäure an sich schwächer als die Rizinolsäure.

Auch der Zusatz von *Cholin* (0,5 g Linolsäure + 0,5 g Rizinolsäure + 0,5 g Cholinum purissimum Merck) in 25 ccm absolutem Alkohol veränderten im wesentlichen die Reaktion nicht, wie aus Tabelle XV ersichtlich ist. Dasselbe gilt auch für das Linol-Rizinolsäure-*Lecithingemisch* (0,5 g Rizinolsäure + 0,5 g Linolsäure + 0,5 g Lecithin) (Tabelle XVI).

Tabelle XV.

Antigen No. 2 = 0,5 g Linolsäure + 0,5 g Rizinolsäure + 0,5 g Cholinum purissimum + 25 ccm absoluter Alkohol im Vergleich mit dem Antigen No. 1 = 0,5 g Lin. + 0,5 g Riz. + 25 ccm abs. Alkohol.

No.		Klinische Diagnose	No. 1: 0,02 ccm		No. 2: 0,02 ccm	
			Ausschlag	Resultat	Ausschlag	Resultat
1	1415	Normal	0,8	—	0,5	—
2	1411	Lues III	0,8	—	0,6	—
3	1420	Zungentumor	2,0	+	2,9	+
4		Normal	1,1	—	1,0	—
5	1434	Gravidität Mens IX	2,6	+	2,8	+
6	1440	Ca. peritonei, Ascitesflüssigkeit	4,6	+	4,0	+
7	1439	Lues, Gravidität Mens V	1,2	—	1,2	—
8	1446	Ca. ventriculi	2,6	+	2,7	+
9	1447	Ca. mammae post oper.	2,8	+	1,9	+
10	1461	Ca. maxillae	1,4	.	1,9	+

Tabelle XVI.

Zusatz von Lecithin.

Antigen No. 1 = 0,5 g Lin. + 0,5 g Riz. + 25 ccm abs. Alkohol.
Antigen No. 2 = 0,5 g Lin. + 0,5 g Riz. + 0,5 g Lecithin + 25 ccm abs. Alkohol.

No.		Klinische Diagnose	Gemisch A No. 1: 0,02 ccm		Gem. A + Lecithin No. 2: 0,02 ccm	
			Ausschl.	Resultat	Ausschl.	Resultat
1	1527	Gravidität	1,9	+	2,6	+
2	1537	Sarkom am Oberkiefer	1,0	—	1,0	—
3	1534	Coxitis	1,7	+	3,0	+
4	1520	Cirrhosis hepatis	2,1	+	2,4	—
5	1548	Ca. uteri, Rez.	1,3	—	1,2	—
6	1533	Lymphosarkom	1,3	—	1,6	.
7	1535	Gonitis, Tbk.?	2,6	+	2,2	+
8	1536	Ca. mammae	1,9	+	1,9	+
9	1556	Ca. pylori?	2,7	+	2,7	+
10	1567	Tumor am Os sacrum?	1,4	.	2,4	+
11	1568	Epitheliom	1,4	.	1,8	+
12	1602	Lupus-Epitheliom	2,7	+	3,2	+
13	1612	Osteomyelitis	2,8	+	1,8	+
14	1618	Paralyse	2,0	+	1,4	+
		Neue Säuren	Gemisch C 0,01 ccm		Gem. C + Lecithin 0,01 ccm	
15	1624	Frühere Malaria	1,2	—	0,3	—
16	1604	Nierenleiden nach einem Unfall	2,0	+	1,6	.
17	1606	Ca. pharyngis	2,0	+	1,4	.
18	1644	Ca. recti	2,0	+	1,7	+

c) Die Antigenwirkung der Tumorextrakte.

Endlich prüfte ich die Wirkung der Carcinom- bzw. Sarkomextrakte auf die Oberflächenspannungsverminderung der Sera, und zwar in verschiedenen Lösungen. Ich benutzte 3 Extrakte bzw. Mischungen von Extrakten, die mir zur weiteren Verarbeitung und Herstellung verschiedener Lösungen dienten.

Es wurden folgende Extrakte verarbeitet:

1) Aethylalkoholextrakt eines Ovarialsarkoms.

2) Gemisch von Extrakten: a) Aethylalkoholextrakt aus Carcinomgewebe; b) Amylalkoholextrakt aus Lebercarcinom, mit Aethylalkohol bereits erschöpft; c) Aethylalkoholextrakt aus Mammacarcinom.

3) Aethylalkoholextrakt aus Darmcarcinom.

Es wurde dabei auf folgende Weise verfahren:

1) Alkoholextrakt abgedampft.

2) Der Rückstand in Aether aufgelöst.

3) Der bei dieser Auflösung entstehende weiße Niederschlag wurde zum Teil in absolutem Alkohol im Verhältnis 1 : 25 aufgelöst (ätherunlöslicher Teil).

4) $^1/_3$ der ätherischen Lösung abgedampft.

5) Der Rückstand in absolutem Aethylalkohol im Verhältnis 1 : 25 aufgelöst (ätherlöslicher Teil). (Es bildete sich dabei ein geringer Niederschlag, der $^1/_{15}$ bis $^1/_{20}$ des Rückstandes ausmachte und durch Abfiltrieren entfernt werden konnte.)

6) $^2/_3$ der ätherischen Lösung nicht vollständig abgedampft, kurz vor der Bildung des Rückstandes abgekühlt und mit Aceton gefällt.

7) Der Fällungsniederschlag durch Filtration bzw. Zentrifugieren von der Lösung getrennt und in absolutem Alkohol im Verhältnis 1 : 25 aufgelöst (acetonunlöslicher Teil).

8) Die Acetonlösung abgedampft.

9) Der Rückstand in absolutem Alkohol im Verhältnis 1 : 25 aufgelöst (acetonlöslicher Teil). (Ich stellte immer die Verdünnung im Verhältnis 1 : 25 her, weil sie sich für den acetonlöslichen Teil als brauchbar erwies, und weil auch die Linol-Rizinolsäure ursprünglich in der Verdünnung 1 : 25 [je 1 g Linol- und Rizinolsäure auf 50 ccm absoluten Alkohol] verwendet wurde.)

Jede Lösung wurde zuerst mit positivem und negativem Serum austitriert. Es ergaben dabei verschiedene Lösungen recht verschiedene Resultate, was aus den beiden Tabellen XVII und XVIII zu ersehen ist.

Tabelle XVII.

Carcinomextrakt II (Gemisch).

	Normalserum		Tumorserum, Pleuraexsudat-Ca.	
	0,01 ccm	0,02 ccm	0,01 ccm	0,02 ccm
Linol-Rizinolsäure (0,2 ccm Lin., 0,2 ccm Rin. in 10 ccm abs. Alk.)	0,7	1,0	1,4	5,4
Aetherlöslicher Teil des Carcinomextraktes	0,3	0,9	0,9	1,9
Aetherunlöslicher Teil des Carcinomextraktes	0	1,0	0,8	1,0
Acetonlöslicher Teil des Carcinomextraktes	0,6	1,0	1,2	2,8
Acetonunlöslicher Teil des Carcinomextraktes	0,7	1,6	1,2	1,8

Es ergibt sich aus diesen Tabellen, daß der acetonlösliche Teil bei weitem die besten Resultate zur Differenzierung des positiven und negativen Serums aufweist. Aber auch der acetonunlösliche und der diese beiden Teile enthaltende ätherlösliche Teil erwiesen sich als brauchbar. Dagegen ist der ätherunlösliche Teil nach der Tabelle XVII vollkommen unbrauchbar.

Tabelle XVIII.
Carcinomextrakt III.

Menge des Antigens	Antigen		Rinderserum	Tumorserum, Ascitesflüssigkeit, Ca. periton.
0,01 ccm	Linol-Rizinolsäure (0,2 ccm Rin., 0,5 ccm Lin. in 10 ccm abs. Alk.)		0,9	9,4
0,02 „	absoluter Alkohol		0,2	0,4
0,02 „	Alkoholextrakt[1])	des Carcinomextraktes	0,2	1,4
0,02 „	alkohollöslicher Teil[2])	des Carcinomextraktes	0,4	2,2
0,02 „	ätherlöslicher Teil	des Carcinomextraktes	0,5	2,9
0,02 „	ätherunlöslicher Teil	des Carcinomextraktes	0,1	1,9
0,02 „	acetonlöslicher Teil	des Carcinomextraktes	1,4	3,9
0,02 „	acetonunlöslicher Teil	des Carcinomextraktes	0,4	1,9

Bekanntlich enthalten die einzelnen Teile, wie Noguchi, Erlandsen und MacLean, sowie im hiesigen Institut Klein und Fränkel (74) bewiesen, zum Teil verschiedene Substanzen. So enthält der acetonlösliche Teil Cholesterin, Fettsäuren, zum Teil frei, zum Teil an Cholesterin gebunden, und wenig Phosphatide, der acetonunlösliche Teil dagegen hauptsächlich Phosphatide, der ätherlösliche Bestandteile des acetonlöslichen und acetonunlöslichen Teiles zusammen, der ätherunlösliche hauptsächlich Salze, Abbauprodukte der Eiweißstoffe und an sie gebundene, von ihnen schwer trennbare Reste der Lipoide. Auffallend ist besonders die alle anderen Teile übertreffende Wirkung und Differenzierungsfähigkeit des acetonlöslichen Teiles. Es ist wahrscheinlich diese Wirkung auf die in ihm vorhandenen und prävalierenden Fettsäuren zurückzuführen. Es wäre noch möglich, auch das Cholesterin dafür verantwortlich zu machen. Allein die Untersuchungen von Izar (32) über Cholesterinverbindungen als Antigen lassen diese Vermutungen als unwahrscheinlich erscheinen. Es ist ihm nicht gelungen, eine Differenzierung eines positiven und negativen Serums damit zu erzielen.

Dieser Annahme gegenüber steht die Vermutung von Köhler und Luger (24) (die bekanntlich Acetonlösung aus Lecithin als Antigen für die Meiostagminreaktion verwendeten), daß acetonlösliche Phosphatide in

1) Ursprüngliches Extrakt.

2) Extrakt abgedampft, Rückstand im Verhältnis 1 : 25 in absolutem Alkohol aufgelöst.

Gegenwart von Cholesterin resp. von Cholesterinestern in der spezifischen Weise auf die Sera der Carcinomatösen einwirken. Allein es fielen die einzelnen von denselben Autoren angestellten Versuche mit Cholesterin „nicht befriedigend" aus. Es ist ja sogar im Gegenteil, wie weiter unten erörtert wird, von Izar (75) eine ganz entgegengesetzte Wirkung des Cholesterins auf die Oberflächenspannungsveränderung des Serums nachgewiesen.

Andererseits prüfte Izar (76) auf eine andere, im Prinzip aber ähnliche Weise die Eigenschaften des methylalkoholischen Pankreasextraktes. Zu je 10 ccm dieses Extraktes wurden 50 ccm reinen Aethylalkohols oder 75 ccm wasserfreien Aethers oder 100 ccm Aceton zugesetzt. Die drei Gemische wurden geschüttelt und zentrifugiert. Das gebildete Präzipitat wurde mit den entsprechenden Lösungsmitteln gewaschen. Es entstanden dabei Alkohol-, Aether- und Acetonpräzipitate, ebenso wie Alkohol-, Aether- und Acetonlösungen.

Es ergab sich, daß das Acetonpräzipitat das wirksamste ist.

Da aber nach meinen Untersuchungen der acetonlösliche Teil sich als besonders geeignet erwies, so unterzog ich hauptsächlich ihn einer mehrmaligen Prüfung. (Wegen des Mangels des mir zur Verfügung stehenden Serums konnte ich die Reaktion nicht mit mehreren Antigenen ansetzen.)

Die Tabellen XIX und XX gewähren uns einen Einblick in die Reaktionsfähigkeit dieser Antigene.

Tabelle XIX.

Antigen = acetonlöslicher Teil des Sarkomextraktes.

No.		Klinische Diagnose	L.R. 0,02 ccm		0,01 ccm des acetonlöslichen Teils des Sarkomextraktes	
			Ausschlag	Resultat	Ausschlag	Resultat
1		Normal (altes Serum)	1,4	.	0,3	—
2	1644	Ca. recti	2,0	+	1,0	+
3	1615	Paralyse (hämolytisch)	1,4	.	0,4	—
4	1606	Ca. pharyngis	2,0	+	1,1	+
5	1640	Ca. ovarii	1,4	.	0,6	—
6	1611	Normal	1,2	—	0,2	—
7	1604	Nierenleid. nach Unfall	2,0	+	0,1	—
8	1622	Malignes Granulom	2,0	+	1,2	+
9	1618	Paralyse (stark hämol.)	2,0	+	0,5	—
10	1624	Normal, früher Malaria	1,2	—	0,1	—
11	1642	Ca. faciei	2,9	+	0,6	—
12	1621	Kompressionsmyelitis	1,2	—	0,6	—

No.		Klinische Diagnose	L.R. 0,02 ccm		0,01 ccm des acetonlöslichen Teils des Sarkomextraktes		0,02 ccm des acetonlöslichen Teils des Sarkomextraktes	
			Ausschlag	Resultat	Ausschlag	Resultat	Ausschlag	Resultat
13	1663	Normal	0,8	—	0,5	—	1,0	—
14	—	Ca. peritonei	8,9	+	0,8	.	1,8	+
15	1650	Diabetes			0,9	.		
16	1651	Epilepsie	1,2	—	0,3	—	0,7	—
17	1653	Gonitis	2,3	+	0,5	—	0,9 —	—
18	—	Normal	1,0	—			1,1	—
19	1655	Ca. uteri	1 7	+			1,5	.

Tabelle XX.

Acetonlöslicher Teil des Sarkoms und der Carcinomextrakte.

No.		Klinische Diagnose	Schwaches Antigen L.R. 0,02 ccm		Ac. L. Sa. 0,02 ccm		Ac. L. Ca. 0,02 ccm	
			Ausschlag	Resultat	Ausschlag	Resultat	Ausschlag	Resultat
1	1663	Normal	1,2	—	1,0	—	1,3	—
2	1679	Tumor am Kiefer	1,6	.	1,5	.	1,1	—
3	1666	Ca. mammae, Rez.	2,4	+	2,8	+	1,8	+
4	1680	Ca. mammae, kein Rez.	0,8	—	1,2	—		
5	1671	Ca. mammae post op., keine Rez.	0,8	—	1,2	—	1,4	.
6	1691	Gravidität? Osteomalacie	1,7	+	1,6	.	1,6	.
7	1692	Tabes incipiens	1,3	—	1,1	—	1,2	—
8	1695	Struma maligna	1,7	+	0,8	—	0,6	—
9	1696	Handgelenktuberkulose	1,3	—	1,1	—		
10	1698	Osteomyelitis	1,3	—			1,7	+
11	1700	Suspekt auf Ca.	1,1	—			1,4	.
12	1703	Normal	1,0	—	0,9	—	0,6	—
13	1708	Ca. oesophagi	1,0	—	1,1	—	0,9	—
14	1400	Ca. peritonei (Ascitesflüssigkeit)	6,8	+	2,8	+	2,7 1,3	+ —
15	1710	Gravidität, Mens VIII	1,7	+	1,1	—	1,7	+
16	1711	Gravidität, Mens IX	2,0	+	1,7	+	1,5	.
17	1716	Ca. mammae op., Rez.	1,5	.	1,3	—	1,8	+
18	1714	Wochenbett 7. Tag.	2,0	+	1,7	+		
19	1712	Tumor hepatis, Wa.R. —	1,3	—			0,9	—
20	1717	Ca. uteri	1,4	.			1,8	+
					Ac. unlösl. Ca. 0,02 ccm			
21	1718	Ca. ventriculi?	1,5	.	1,6	.	1,7	+
22	1719	Nephritis acuta	1,2	—	1,3	—	1,1	—

No.		Klinische Diagnose	Brauchbares Antigen L.R. 0,02 ccm		Ac. lösl. Ca. gelöst in Aceton 0,01 ccm		Ac. L. Ca. 0,02 ccm	
			Ausschlag	Resultat	Ausschlag	Resultat	Ausschlag	Resultat
23	1726	Ca. mammae op., keine Rez.	1,2	—	1,8	+	1,0	—
24	1734	Ca. hepatis	2,5	+	2,2	+	1,5	.
25	1738	Ca. mammae, Rez.	1,0	—	2,1	+	0,4	—
26	1741	Ca. linguae	1,7	+	2,4	+	1,5	.
27	1728	Ca. mammae	2,1	+	1,8	+	1,7	+
28	1743	Gehirnabszeß	1,1	—			1,3	—
					Ac. L. Sa. 0,02 ccm			
29	1748	Ca. linguae			1,7	+	1,5	.
30	1755	Incip. tbc.	0,9	—	1,5	.		
31	1756	Incip. tbc.	1,3	—	1,3	—		
32	1757	Ca. mammae, keine Rez.	0,9	—	1,5	—	1,4	—
33	1758	Tumor der Submaxillargegend	1,4	.	1,0	—	1,4	.
			Neues Antigen 0,01 ccm		Ac. L. Sa. 0,02 ccm			
34	1759	Ca. mammae	2,3	+	1,5	.	1,6	.
35	1766	Ca. mammae, Rez.	1,9	+	1,9	+		
36	1773	Ca. ventriculi	2,1	+	1,6	.		
37		Normal	0,8	—	1,0	—		
38	1775	Mediastinaltumor	2,4	+	1,4	.		
39	1738	Ca. ovarii	1,9	+	1,6	.		
40	1784	Ca. recti	0,8	—	1,2	—		

Die mit 0,01 ccm angesetzten Sera, wobei ich 0,8 Tropfen als Grenzwert annahm, zeigten im allgemeinen eine schwächere Reaktion als die mit gewöhnlicher Linol-Rizinolsäure angesetzten. Es ergaben zwar die 2 mit Linol-Rizinolsäure sonst positiv reagierenden Sera von Kranken mit progressiver Paralyse (hämolytisches Serum) und Nierenleiden nach einem Unfall eine negative Reaktion; jedoch war auch der Ausschlag bei 2 Carcinomsera negativ. Auch mit 0,02 ccm des Carcinom- bzw. Sarkomextraktes angesetzte Sera zeigten besonders zuletzt eine geringe Reaktionsfähigkeit. Es ließ sich die Tendenz einer fortschreitenden Abnahme der Reaktionsfähigkeit der Extrakte feststellen, was auf ihre starke Labilität hinwies.

Als viel stabiler erwies sich dagegen das Linol-Rizinolsäuregemisch, indem es seine Reaktionsfähigkeit meist mehrere Wochen behielt. Zwar stellte ich mir jede Woche eine frische Lösung her, um die Bedingungen der Reaktion möglichst für alle Sera gleich zu machen, jedoch stellte sich beim Vergleich von den zu verschiedenen Zeiten hergestellten Antigenen eine annähernd gleiche Reaktionsfähigkeit heraus, mitunter fanden sich allerdings bei den älteren stärkere Ausschläge.

Es ergibt sich also, daß das Linol-Rizinolsäuregemisch sowohl durch seine Reaktionsfähigkeit als auch durch seine Stabilität und leichte Herstellbarkeit bei weitem die Extrakte übertrifft. Es kommt also vor allem als Antigen bei der Meiostagminreaktion in Betracht.

Zusammenfassung.

1) Die Meiostagminreaktion ergibt bei Verwendung von Linol-Rizinolsäuregemisch als Antigen positive Reaktion bei folgenden Erkrankungen und konstitutionellen Anomalien:

a) bei den meisten Carcinomen:
   α) bei fast allen Carcinomen des Magen-Darmtraktus;
   β) bei den meisten Mammacarcinomen;
   γ) bei vielen Carcinomen des weiblichen Genitaltraktus;
   δ) bei wenigen Hautcarcinomen;
b) bei fast allen Graviditäten;
c) bei der Hälfte der Tuberkulosefälle — bei fast allen weit vorgeschrittenen Lungenphthisen mit Tuberkulosebacillen im Sputum;
d) bei fast allen Lebercirrhosen;
e) bei allen Diabetesfällen;
f) bei Urämie;
g) bei vielen mit Fieber verbundenen Prozessen;
h) bei chronischen Knochengelenkentzündungen;
i) bei einigen Luesfällen, besonders bei Lues III.

2) Die Verwendung der Meiostagminreaktion für klinisch diagnostische Zwecke ist auf zwei Gruppen einzuschränken:

a) für die Diagnose der Carcinome des Magen-Darmtraktus:
   α) Magencarcinome — gegen Magenulcus, Gastroptose und Dyspepsie;
   β) Rectumcarcinome gegen Hämorrhoiden;

b) für die Diagnose der Schwangerschaft, auch im Anfang der Gravidität, nur bei vollständig gesunden Frauen.

3) Mit großer Vorsicht ist die Meiostagminreaktion bei Carcinomen des weiblichen Genitaltraktus zu verwenden.

4) Absolut unbrauchbar ist die Meiostagminreaktion bei Hautcarcinomen.

5) Das Linol-Rizinolsäuregemisch als Antigen übertrifft die Extraktantigene durch seine Stabilität, höhere Reaktionsfähigkeit und leichte Herstellbarkeit.

6) Weder durch Zusatz von Cholin noch von Lecithin sind die Ausschläge zu erhöhen.

7) Von den verschiedenen Teilen der Extrakte ist der acetonlösliche bei weitem der wirksamste.

8) Im acetonunlöslichen Teile scheinen antagonistisch wirkende Stoffe enthalten zu sein, da das Aether- resp. Alkoholextrakt schlechtere Antigenwirkung hat als die acetonlösliche Fraktion.

B. Theorie der Reaktion.

I. Literaturbericht.

Ueber die Theorie und das Wesen der Reaktion ist noch nichts Sicheres bekannt. Es hat sich zwar im Laufe der Zeit vieles geklärt, trotzdem ist man noch weit von dem vollständigen Verständnis dieser komplizierten Vorgänge im Serum entfernt. Es war sehr naheliegend, die eigenartige, fast spezifische Wirkung der Tumorextrakte auf die Tumorsera und das Versagen bei den Nichttumorsera als einen rein biologischen Vorgang im Sinne einer Immunitätsreaktion aufzufassen. Trotzdem schon die Bezeichnung Antigen für die Extrakte beweist, daß die ersten Autoren ursprünglich auf diesem Wege waren, ist bereits bei Ascoli (12) die Abneigung auffällig, die Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten als eine direkte Antigen-Antikörperreaktion zu betrachten, obgleich er bezüglich der Tuberkulose, der Syphilis und des Typhus dieser Auffassung entschieden zuneigte.

Es sollten nach Ascoli im Blute verschiedener Kranken spezifische Meiostagmine vorhanden sein, die bei Antigenzusatz die charakteristische Oberflächenspannungsverminderung hervorrufen. Auf Grund dieser Tatsachen stellte Traube (77) die Theorie auf, daß es sich um eine Ver-

bindung zwischen Toxin und Antitoxin handeln müßte, die wegen der Vergrößerung des Komplexgewichtes die Oberflächenspannung stärker als die einzelnen Komponenten herabdrückt. Drei Tatsachen machten diese Theorie für Carcinome sehr unwahrscheinlich. 1) Es ergab sich bei den nächsten Nachprüfungen, besonders von der deutschen Seite [Tedesco (40), Stammler (22), Kelling (23)], daß bei weitem nicht alle Neoplasmen eine Verminderung der Oberflächenspannung hervorrufen, daß vielmehr ganze Gruppen, wie z. B. Hautcarcinome [Ascoli (14, 15)], nur in der Minderzahl eine positive Meiostagminreaktion ergeben, und daß auch viele Nichttumorsera positiv reagieren. 2) Bertollini (78) wies bei Diphtherie und Tetanus nach, daß das Zusammenbringen von Toxin und Antitoxin die Bildung von Stoffen mit geringem Haftdruck nicht verursacht. 3) Am wichtigsten war aber die Tatsache, auf die Micheli und Cattoretti (19) hinwiesen, daß man aus dem normalen Hundepankreas Antigene gewinnen kann, welche imstande sind, mit den Tumorsera in derselben Weise spezifisch zu reagieren wie die spezifischen Antigene selbst. Aber auch sie nahmen an, daß es sich hierbei um spezifische Meiostagmine handeln müßte, die sich unter die anderen Antikörper nicht einreihen lassen. Sie fanden, daß diese Meiostagmine gewisse Eigenschaften besitzen und zwar: 1) sie ertragen Erwärmung auf 50° C, 2) sie erfahren bei 70° Abschwächung, 3) werden sie in einer Temperatur über 75° zerstört, 4) über 75° erhitzt können sie nicht mehr reaktiviert werden.

Die Entdeckung der synthetischen Antigene [Köhler und Luger (24, 34) und Izar (25, 26)], die dieselbe Wirkung aufweisen wie die spezifischen Extrakte, entriß der Auffassung der Meiostagminreaktion als einer Immunitätsreaktion vollständig den Boden.

Bei weitem die meisten Autoren neigen dazu, fermentative Prozesse in der Meiostagminreaktion anzunehmen. Es sollen im Blutserum einer ganzen Anzahl von Kranken durch die Einwirkung von Fermenten gewisse Stoffe gebildet werden, die in vitro, mit Antigen zusammengebracht, eine Oberflächenspannungserniedrigung zustande bringen. So nimmt Kelling (23) an, daß es sich wahrscheinlich um Lipoide der Krebszellen, und zwar der nicht nekrotisierten Zellen, handeln müßte, die entweder selbst den Bestandteil der verdauenden Fermente bilden oder die entsprechende Enzymwirkung unterstützen. Damit würde die auffallende Tatsache übereinstimmen, daß man aus Carcinomen der verschiedenen Regionen des menschlichen Körpers einen und denselben Stoff extrahieren kann, mit welchem die verschiedenen morphologisch differenten Geschwülste eine Reaktion geben. Auch Stammler (22) ist der Meinung, daß bei der Meiostagminreaktion hauptsächlich der Nachweis von Stoffen, die vielleicht fermentativen Prozessen ihre Entstehung verdanken, in Betracht kommt. „Es scheint, daß aus dem Tumorgewebe irgendwelche Stoffe in die Gewebe und in das Blut austreten, die vielleicht fermentativ wirken und den Abbau in der typischen Weise beschleunigen“ (Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 33, p. 1957). Eine Stütze für diese Anschauungen findet Stammler vor allem in der Tatsache, daß es Emerson gelungen ist, in einem malignen Tumor, nämlich in einem Magenkrebse, ein pepto-

lytisches Ferment nachzuweisen. Durch dieses Ferment wird das Eiweiß viel weiter gespalten als bei der Magenverdauung.

Auf Grund von Versuchen, die sie mittels der Methode von Michaelis und Rona angestellt haben, geben Micheli und Cattoretti (51) nicht die Möglichkeit der Annahme zu, daß lipolytische Fermente im positiv reagierenden Serum vorhanden sind. Wenn man noch zur Zeit der Verwendung der Gewebsextrakte an die Möglichkeit des Zustandekommens der fermentativen Spaltung durch die im Serum vorhandenen lipolytischen Fermente denken konnte, ist bei der Benutzung der Fettsäuren als Antigene eine solche Einwirkung auf das Serum ausgeschlossen.

Es müssen also schon im Serum Stoffe vorhanden sein, auf die das Antigen seine Wirkung ausüben kann. Sollen aber diese Stoffe durch fermentative Prozesse oder auf irgendeine andere Weise entstehen, so müssen wir vor allem zu erforschen suchen, was für Stoffe dies sind und welche Eigenschaften sie besitzen. Darüber finden wir in der Literatur nicht besonders viele Angaben.

Micheli und Cattoretti (38) betonen den eminenten Unterschied zwischen den Meiostagminen und anderen Antikörpern, indem erstere sich durch ihre relative Temperaturbeständigkeit auszeichnen, mit dem Globulin (mit der Hammarstenschen Methode) nicht gefällt werden können und sich bei dem Schütteln mit Aether in ganz besonderer Weise verhalten.

Izar (79) gibt an, daß die Aetherextraktion des im Vakuum bei 37 bis 40° getrockneten Serums die Meiostagminreaktion vernichtet, während das ohne Extraktion im Wasser wiederaufgelöste Serum die Meiostagminreaktion gibt, daß aber die Aether- sowie die Alkoholextrakte der Blutsera keine Tumormeiostagmine enthalten.

Micheli und Cattoretti (51) fanden dagegen nach ihrer neuesten Arbeit, daß bei der Auflösung des im Exsikkator getrockneten Serums die Meiostagminreaktion im wesentlichen höhere Werte zeigt und zwar gleichmäßig sowohl für das normale wie für das Tumorserum, und daß bei Aether- und Chloroformextraktion viel höhere Werte erreicht werden, wobei das Tumorserum hinter dem Normalserum zurückbleibt.

Nach weiteren Angaben von Micheli und Cattoretti (38) 1) verschwindet die Reaktionsfähigkeit infolge der Enteiweißung des Serums durch Kaolin oder durch kolloidales Eisenhydrat (nach Michaelis und Rona); 2) sind die aktiven Stoffe des neoplastischen Serums im wesentlichen an die Globuline gebunden (Ausfällungen durch CO_2), und 3) verschwindet die Reaktionsfähigkeit beim Schütteln mit Aether und kann nicht mehr durch Zusatz des ätherischen Extraktes hergestellt werden. Endlich kommt Izar (28) auf Grund einer Reihe von Untersuchungsergebnissen zu der Vermutung, daß die Verminderung der Oberflächenspannung nicht von dem Auftreten neuer Substanzen oder von dem Freiwerden der vorher vorhandenen abhängt, sondern daß sie in den Tumorsera nur durch den verminderten Gehalt oder Verlust von Substanzen zustande kommt, welche die Fettsäuren oder die Lipoidextrakte binden, oder daß sie durch die schon vorher eingetretene Sättigung dieser bindenden Substanzen bedingt ist. Das setzt aber eine quantitative Vermehrung oder

geänderte qualitative Verteilung der Fettkörper oder Lipoide des Serums voraus. Auch könnte eine größere Labilität der Fettsäureproteinverbindungen gegenüber dem Erhitzen im Spiele sein.

Auf diese Veränderung bzw. Labilität der Bestandteile des Serums gegen Erhitzen weist Traube (80) hin, der durch Erhitzen des Serums auf etwa 56° C eine erhebliche Veränderung der Oberflächenspannung feststellen konnte. Es bilden sich Stoffe von geringerem Haftdruck, welche die Oberflächenspannung des Serums erniedrigen. Wird aber ein Serum anstatt auf 56° auf eine geringere Temperatur, etwa anf 40—50° erhitzt, so erfolgt zwar eine Erniedrigung der Oberflächenspannung, aber dieselbe ist bei weitem geringer und der Vorgang wird von selbst rückgängig. Es soll nach Traube bei diesem Vorgange eine Hydrolyse eintreten. Dafür würde auch der Umstand sprechen, daß derartige Hydrolysen beim Erwärmen wässeriger Lösungen von Salzen schwacher Säuren mit Basen bekannt sind; dafür spräche auch die Reziprozität der Reaktion und die Erhöhung des freien Alkaligehaltes beim Erwärmen der Sera. Traube bezieht diese Hydrolyse im Serum auf fettsaure oder gallensaure Salze, deren Wirkung bei gewöhnlicher Temperatur durch die Kolloidhülle verdeckt wird. Die erhöhte Temperatur bedingt die Hydrolyse dieser Salze und das Auftreten von freien Fettsäuren und Gallensäuren im Serum, die die Oberflächenspannung des Wassers viel stärker erniedrigen als deren Salze. Dieser Vorgang soll aber mit einem anderen Vorgang verbunden sein, an welchem physikalisch oder chemisch das Eiweiß beteiligt ist.

Zieht man in Betracht, daß bei der Meiostagminreaktion durch Zusatz von Antigen und Kochsalzlösung im Ueberschuß die hydrolytische bzw. die elektrolytische Dissoziation zweifellos gesteigert wird, so würde sich jede Vermehrung von den die Hydrolyse bedingenden Stoffen oder ihre größere Labilität in dem Ausfall der Reaktion bemerkbar machen.

Eine solche Vermehrung hat Izar (75) in seiner letzten Arbeit in einem erhöhten Gehalt an bestimmten Lipoiden und zwar an Fettsäuren bzw. in einem verminderten Gehalt oder einer Veränderung von fettsäurebindenden Substanzen (Cholesterin, Calciumchlorid) feststellen können. Er nimmt auf Grund seiner Untersuchungsergebnisse an, daß der Unterschied, welcher in der Meiostagminreaktion bei bösartigen Geschwülsten zum Ausdruck kommt und ihr Wesen ausmacht, darin besteht, daß die Nichttumorsera die Fähigkeit besitzen, die die Oberflächenspannung herabsetzende Wirkung bestimmter Fettsäuren oder erhitzter Extraktantigene innerhalb gewisser Grenzen zu verhüllen, die Tumorsera dagegen diese Fähigkeit nur in geringerem Maße besitzen. Es sind also gewisse Stoffe im Serum, die die Wirkung der Fettsäuren verhüllen, wahrscheinlich indem sie mit ihnen in Verbindung treten. Sind aber die Fettsäuren im Serum, sei es infolge einer pathologischen Veränderung oder durch einen künstlichen Zusatz, vermehrt, so sind die bindenden und die Wirkung des Antigens verhüllenden Eigenschaften der betreffenden Stoffe nicht imstande, ihre Eigenwirkung auszuüben. Sind aber diese bindenden Substanzen vermehrt, so soll der Zusatz von Antigen wirkungslos bleiben bzw. der positive Ausfall des früher positiv reagierenden Serums gehemmt werden. Izar (75)

erzielte beim Zusatz von Fettsäuren bei Nichttumorsera einen positiven Ausschlag, beim Zusatz von Cholesterin oder Calciumchlorid zum Tumorserum einen negativen Ausschlag.

Die wichtigste Schlußfolgerung, die eine praktische Bedeutung haben könnte, ist die Annahme einer Vermehrung der Fettsäuren im Tumorserum und in den anderen positiv reagierenden Sera, wie bei Schwangerschaft, weit vorgeschrittener Lungentuberkulose usw., und die einer Vermehrung des Cholesterins bzw. Calciumchlorids beim normalen Serum und allen negativ reagierenden Sera.

Zu derselben Annahme kommen auch Micheli und Cattoretti (51), indem sie einen gewissen Parallelismus zwischen dem positiven Ausfall der Meiostagminreaktion und der Vermehrung des Gehaltes der Sera an Fetten und Lipoiden (bestimmt nach der Methode von Kumagawa und Suto, modifiziert nach Shimutzo, feststellten. Sie bezogen aber den positiven Ausfall der Reaktion nicht auf die einfache Vermehrung der Lipoide, sondern vermuten, daß wahrscheinlich eine Aenderung des durch die Vermehrung der Lipoide bedingten physikalischen Zustandes des Serums im Spiele ist. Auch denken sie an eine gewisse Veränderung des Fixationsverhältnisses dieser Lipoide durch andere Lipoide oder Eiweißstoffe, wobei auch einzelne Proteine, Albumine oder Globuline bezüglich ihrer Fixationsfähigkeit in Betracht gezogen werden müssen.

Ich sehe davon ab, festzustellen, wie weit diese Annahme mit den bis jetzt bekannten Ergebnissen der chemischen Untersuchungen übereinstimmt. Doch muß ich auf einen interessanten Versuch hinweisen, bei dem die Wirkung eines möglichen Fixations- bzw. Verhüllungsmittels, nämlich des Cholesterins, zum Ausdruck kommt.

Es ist schon seit den Untersuchungen von Izar (81) bekannt, daß nicht nur Tumorsera von Menschen, sondern auch von sarkomtragenden Ratten bzw. carcinomtragenden Mäusen einen positiven Ausschlag bei der Meiostagminreaktion ergeben. Nun hat Cattoretti (82) gezeigt, daß der Zusatz von Antigen (Pankreas- oder Rattensarkomextrakt) zum Blutserum der beider Nebennieren gleichzeitig beraubten Sarkomratten eine viel stärkere Verminderung der Oberflächenspannung bewirkt im Vergleich zu der bei den nicht operierten Sarkomratten. Bekanntlich wird von vielen Autoren angenommen, daß die Nebenniere die Bildungsstätte, jedenfalls das wichtigste Depot des Cholesterins sei. Sind aber die Nebennieren entfernt, so versagt die Cholesterinquelle, es fehlt die bindende Substanz — möglicherweise daher die großen Ausschläge bei den operierten Ratten.

Die zweite Erklärungsmöglichkeit des Wesens der Meiostagminreaktion bietet der von Traube angedeutete Vorgang, an welchem physikalisch oder chemisch das Eiweiß beteiligt ist.

Bekanntlich besitzt das Proteinmolekül die gleiche Anzahl von basischen und sauren Gruppen. Es sollen aber nach Kammann (83) die Dissoziationskonstanten der letzteren viel größer sein als die der basischen Gruppen; infolgedessen wirken solche Proteine wie die Serumeiweißkörper im großen und ganzen wie schwache Säuren. Auch hier, genau wie im ersten Fall bei den Lipoiden, wird wahrscheinlich diese Dissoziation durch Zusatz von Linol-Rizinolsäure und Kochsalzlösung und durch das Erhitzen auf 50° gesteigert, was wieder zum Auftreten von kapillaraktiven Stoffen Veranlassung geben könnte.

Aber nicht nur durch die Spaltung der Moleküle der Eiweißstoffe, sondern auch durch die bloße Vermehrung bzw. Verminderung der im betreffenden Serum vorhandenen Menge der Eiweißstoffe kann die Reaktion beeinflußt, vielleicht sogar bedingt sein. Nach der Angabe einiger Autoren findet man bei einer Reihe von Erkrankungen eine Hydrämie des Serums infolge der Verminderung des Eiweißgehaltes.

So gibt Krehl (84) in seinem Lehrbuch der pathologischen Physiologie, p. 193, an, daß zuweilen der Körper Organeiweiß verliert, was zur Hypalbuminose des Serums beiträgt. Das ist aber keineswegs notwendig und überdies beobachtet man nicht selten beträchtliche Eiweißverluste ohne irgendwelche Veränderungen in der Zusammensetzung des Serums. Blutungen, Inanition, schwere chronische Infektionen, Anämien, bösartige Tumoren führen oft zur Abnahme des Eiweißes im Serum, aber auch diese Momente tun es keineswegs regelmäßig. Grawitz (85) und Strauer (86) geben an, daß bei Krebskranken regelmäßig und ausgesprochen eine Hydrämie auf dem Boden der Hypalbuminose auftritt. Diese Hypalbuminose, die durch Zerfall des Protoplasmas und somit auch durch die Verarmung des Blutes an festen Bestandteilen bedingt ist, ist besonders auffallend im Hinblick auf die gänzlich verschiedenen Verhältnisse bei der Kachexie der Schwindsüchtigen. Bei Tuberkulose pflegt im allgemeinen die Verminderung der normalen Teile des Blutes nicht besonders stark zu sein, soweit nicht Blutverluste, Eiterungen und Komplikationen eintreten. Nur bei der vorgeschrittenen Phthise, zu der sich Fieber stärkeren Grades hinzugesellt hat, ganz besonders bei den akuten Formen entzündlicher Lungentuberkulose, finden sich niedrige Werte der Eiweißstoffe sowie auch anderer Bestandteile des Blutserums. Ganz anders verhält es sich bei Carcinom: hier ist stets eine beträchtliche Verschlechterung der Blutzusammensetzung zu beobachten. Außer dem protoplasmazerstörenden Einflusse auf die Konzentration des Blutes, der nach Friedrich Müller durch die in den Säften Krebskranker kreisenden toxischen Stoffe bedingt ist, spielen nach Grawitz wahrscheinlich im Blute der Carcinomatösen abnorme Lymphstauungen eine Rolle, die zu der Anziehung von Flüssigkeiten in das Blut und somit zur Verdünnung führen resp. beitragen. Experimentell bewies Grawitz den auffallenden Unterschied zwischen Tuberkulose und Carcinom, indem er dem Kaninchen Extrakte aus käsigen

Lungenherden bzw. aus carcinomatös entarteten Geweben einspritzte und im ersten Falle keine Erniedrigung, sogar eine Erhöhung des Eiweißgehaltes erzielte, hingegen im zweiten Falle eine deutliche Herabsetzung der Serumkonzentration erhielt.

Dieses Moment der Verminderung des Eiweißgehaltes bzw. der Vermehrung des Wassers bei fast allen nach meinen Untersuchungsergebnissen positiv reagierenden Sera könnte zweifellos eine ausschlaggebende Rolle bei der Meiostagminreaktion spielen.

Da diese Hypalbuminose nach Angaben von Autoren infolge des Zerfalls von Eiweißstoffen entsteht, so wäre zu erwarten, daß an Stelle der Eiweißstoffe, sei es durch toxische Einwirkung im Sinne von Friedrich Müller, sei es durch peptolytische oder antitryptische Fermente oder endlich durch die Abwehrfermente im Sinne von Abderhalden, Abbauprodukte im Blutserum aufträten. Unter normalen Verhältnissen wurden sie von den meisten Autoren weder im Blute noch in der Lymphe gefunden (Neumeister, Salvioli, Abderhalden und Oppenheimer, Funk und London, Morawitz und Dietschy). Demgegenüber stehen die Untersuchungen von Emden und Knoop, Langstein, Bergmann, Kraus, Freund, die Albumosen im Blut von Tieren und Menschen zu finden glaubten.

Wenn über das Normalserum eine gewisse Meinungsverschiedenheit herrscht, so sind doch die meisten Autoren darin einig, daß eine ganze Reihe von krankhaften Prozessen einen pathologischen Gehalt an Peptonen und Albumosen aufweist. Zwar wurden bis jetzt noch keine Untersuchungen über Peptone des Serums in pathologischen Fällen gemacht, aber es liegen zahlreiche Arbeiten über den Gehalt des Harns an Peptonen und Albumosen vor, die uns einen direkten Rückschluß auf die Anwesenheit derselben im Serum zweifelsohne erlauben.

Vor allem wurden von der Mehrzahl der Autoren [v. Jaksch (88), Maixner (89), besonders aber Krehl und Matthes (90) und ihre Schüler Schultes (91), Martin (92), Haak (93)] beim Fieber Albumosen im Harne gefunden. Es sollten bei fieberhaften Zuständen im Harne hydrierte Eiweißkörper sich bilden, während beim Stoffwechsel des Gesunden das Eiweißmolekül nicht im Sinne der Hydration sich spaltet (Schultes). Morawitz und Dietschy (94) fanden nur bei einer Minderzahl von

fieberhaften Erkrankungen (37 Proz.) Albumosen im Harne und bezogen den häufig von anderen Autoren berichteten Befund der Peptone bzw. Albumosen im Harne auf Mehrbildung von Nukleoalbuminen.

Es wurde auch bei Carcinomkranken von vielen Autoren ein positiver Befund von Albumosen im Harne konstatiert [vor allem Maixner (89), Pacanowski (95), Katz (96), v. Aldor (97)]. Maixner bezog die Pepton- bzw. Albumosebildung auf ihren enterogenen Ursprung, da er nur Carcinome des Magens untersuchte, Pacanowski dagegen wies ihre Anwesenheit auch bei anderen Carcinomen nach und folgerte daraus ihre histogene Entstehung in dem Sinne eines Zerfalls und einer Resorption des Carcinomgewebes. Brieger (98) fand nur bei Magencarcinomen Albumosen, nicht dagegen bei anderen Carcinomen; vereinzelte positive Resultate erzielte Müller (99). Negative Resultate bei Carcinomen bekamen Grocco (100), Hirschfeld (101), Leick (102), Robitschek (103), Schultes (91). Weitere positive Befunde wurden bei Phosphorvergiftung und akuter gelber Leberatrophie nachgewiesen [vgl. die Meiostagminreaktion bei denselben Krankheiten bei Micheli und Cattoretti (51)]. Pacanowski bezieht das, den Untersuchungen von Plosz und Gyergyai folgend, auf ihre hepatogene Entstehung als eine gestörte Funktion der Leber und ungenügende Verarbeitung der Peptone in Eiweiß infolge der parenchymatösen Degeneration der Leber.

Es ist sehr interessant, daß auch in ähnlicher Weise während der Schwangerschaft bzw. im Wochenbett der Harn Albumosen aufweist [Fischel (104, 105)]. Zwar fand später Köttnitz (106) nur in vereinzelten Fällen von normaler Schwangerschaft Albumosen im Harn, in der Regel aber während oder nach dem Abort von toten und mazerierten Früchten. Dagegen konnte Midori Ito (107) bei mehr als einem Drittel der von ihm untersuchten Wöchnerinnen Peptone nachweisen. Bei zwei Schwangeren fand er weder Peptone noch Albumosen. Köttnitz (108) bezog das Auftreten der Albumosen im Harne der Schwangeren mit toten Früchten auf Resorption von Zerfallsprodukten der Föten, während es sich im Harne normaler Schwangeren um Resorptionsvorgang und Diffusionsvorgang des Fruchtwassers handeln sollte. Weiter wies Köttnitz (109) auch im Fruchtwasser Peptone und Albumosen in reichlicher Menge nach.

Bemerkenswert ist die geradezu auffallende Uebereinstimmung dieser Untersuchungsergebnisse mit den Resultaten bei der Meiostagminreaktion, so daß sich die Vermutung aufdrängt, diese Stoffwechselstörung im Sinne der Vermehrung der Abbauprodukte der Eiweiße sei die Grundlage der komplizierten Vorgänge bei der Meiostagminreaktion. Diese Vermutung findet auch eine Bestätigung bei den negativ reagierenden Sera, wo in den meisten Fällen keine Peptone gefunden wurden — nur Brieger (98) und Robitschek (103)

fanden auch bei Ulcus ventriculi Peptone bzw. Albumosen im Harne.

Abgesehen von der Frage, was für Stoffe die Reaktion bedingen, hängt die Wirkung des Antigens, in diesem Fall der zugesetzten Fettsäure, schon von dem ganzen physikalischen Milieu ab, auf welches das Antigen einwirkt, also von dem kolloidalen Zustande des Serums. Je größer die Haftlockerung [Traube (110)] der Kolloide ist, um so weniger wirkt das Antigen auf das Milieu ein, um so leichter geht dasselbe in die Oberfläche (nach Gibbs-Thomsons Prinzip), und um so größer ist die Oberflächenspannungsverminderung. Andererseits ist von der mehr oder weniger starken Haftlockerung der Kolloide auch die Stärke der Aggregierung des Serums abhängig. Darauf könnte die schon längst bemerkte Trübung beim Zusatz von Linol-Rizinolsäuregemischen oder Extraktantigenen beruhen, die beim weiteren Zusatz von Antigen in eine Ausflockung übergehen kann.

Darauf baute Stammler (32) seine Tumorreaktion. Er bemerkte, daß die opaleszierende Krebsextraktverdünnung durch Zusatz von Krebsserum unter Bildung eines Niederschlags vollständig geklärt wird, während diese Klärung beim Zusatz von Normalserum oder Serum anderer Krankheiten ausbleibt. Erst beim längeren Stehen tritt zwar hier und da auch bei Nichttumorsera ein feiner Niederschlag auf, aber die Flüssigkeit behält die Trübung oder Opaleszenz.

Ebenso spielt wahrscheinlich bei der Einwirkung des Antigens auf seine einzelnen chemischen Komponenten und auf den Gesamtzustand des Serums seine alkalische bzw. saure Reaktion eine nicht unwesentliche Rolle.

Dafür spricht eine erhöhte Reaktionsfähigkeit im Sinne einer größeren Oberflächenspannungsverminderung bei der Erwärmung der Sera [Izar (79)]. Es tritt dabei bekanntlich nach Traube (80) eine Erhöhung des freien Alkaligehaltes ein, der gewöhnlich im Normalserum = 85 ist, definiert als das Verhältnis der OH-Ionenkonzentration zu den H-Ionenkonzentrationen (Michaelis und Rona). Bei der Erhitzung des Serums wird zuerst die neben Bikarbonaten vorhandene freie Kohlensäure vollkommen ausgetrieben, und die Bikarbonate zum Teil völlig in Monokarbonate übergeführt, und die aus dieser Reaktion resultierende freie Kohlensäure ebenfalls aus dem Serum entfernt [Kammann (83)].

Für die alkalische Reaktion sprechen weiter die Ergebnisse der Untersuchungen mit der Epiphaninreaktion.

Die Epiphaninreaktion (ἐπιφαίνω = die Oberfläche) beruht bekanntlich auf dem Prinzip der Diffusionsbeschleunigung beim Zusammenbringen von bestimmten Antigenen und ihren Antikörpern [Weichardt (112, 113)]. Es hat sich bald erwiesen, daß diese Reaktion durch Verschiebung des Umschlagspunktes von Indikatoren, z. B. von Phenolphtalein, gekennzeichnet und leichter für praktische Zwecke verwendet werden kann.

Nach den neuesten Modifikationen (116) wird die Epiphaninreaktion auf die Weise ausgeführt, daß man in ein Gefäß zu einmal bestimmten Verdünnungen von Antigen und Antiserum, die aufeinander eingewirkt hatten, das genau aufeinander eingestellte System von Bariumhydrat + Schwefelsäure hinzufügt; ins zweite Gefäß bringt man dieselbe Barytschwefelsäure zu der Verdünnung von Antigen und Antiserum, bevor diese aufeinander einwirken konnten. Dadurch wird der Phenolphtaleinumschlagspunkt in einer gewissen Weise verändert. Dieser durch die Antikörperreaktion entstandene Unterschied ist durch bestimmte Mengen von $n/_{1000}$ Schwefelsäure ausgleichbar, und aus den dadurch erhaltenen Werten, die den verbrauchten Säuremengen entsprechen, ergibt sich das Resultat der Reaktion.

Es wurden mittels dieser Reaktion zuerst bei der Syphilis von Seifert (114) geradezu glänzende Resultate erzielt, die angeblich diejenigen mit der Wassermannschen Reaktion weit übertrafen. Kammann (83) bekam dagegen bei Lues ungünstige Resultate und bestritt die Brauchbarkeit der Epiphaninreaktion für die Diagnose der Syphilis. Es gelang weiterhin Mosbacher (115), sehr gute Erfolge mit dieser Reaktion bei der Schwangerschaftsdiagnose zu erzielen. (Eine Bestätigung von anderer Seite steht noch aus.)

Neuerdings wurde von Eugen Jozca und Minokichi Tokioka (116) auf die Brauchbarkeit der Epiphaninreaktion auch zur Diagnose der Carcinome hingewiesen. Sie bekamen bei klinisch sicheren Carcinomen in 81,5 Proz. eine positive Reaktion, während bei klinisch sicher carcinomfreien Fällen in der weit überwiegenden Mehrzahl die Reaktion negativ war. Leider ist in der Arbeit nicht angegeben, welche Krankheiten unter den positiv reagierenden, aber carcinomfreien Fällen sich befinden. Als Antigen benutzten sie eine Verdünnung eines wässerigen Glyzerintumorextraktes, dessen hundertfache Verdünnung höchstens innerhalb 0,5 ccm $n/_{1000}$ Schwefelsäurelösung entsprechen sollte. Diese Autoren sind aber der Meinung, daß auch Fettsäuregemische (Rizinolsäure, Linolsäure) brauchbare Antigene liefern. Dieser letzte Umstand würde für eine gewisse Identität der Epiphanin- und Meiostagminreaktion sprechen. Jedoch behauptet Traube (117), daß die Diffusionskonstante und die Oberflächenspannungskonstante nichts miteinander zu tun haben. Auch Izar (118) ist der Meinung, daß die Verwechslung der Grundbegriffe Diffusion und Oberflächenspannung genau ebenso jeder Berechtigung entbehrt wie die Verwechslung ihrer Konstanten, indem beide nur aus dem nicht nachgewiesenen Zusammenhang jener Konstanten hervorgehen könnten. Demgegenüber stehen Weichardt und seine Schule. Weichardt (113)

nimmt an, daß die Veränderung der Oberflächenspannung und diejenige der Diffusion nicht direkt, sondern dadurch zusammenhängen, daß beide von den Veränderungen des osmotischen Druckes bedingt sind.

Wir wollen von den theoretischen Erwägungen, nach denen die Identität der beiden Reaktionen möglich ist, absehen und nur vor allem die eindeutige Uebereinstimmung des positiven Ausfalls bei Carcinomen bei beiden Reaktionen mit Hilfe desselben Antigens ins Auge fassen. Da nämlich bei der Epiphaninreaktion hauptsächlich die Veränderung des Serums im Sinne einer Vermehrung der OH-Ionen in Betracht kommt, die ein verschiedenes Absorptions- oder Bindungsvermögen gegenüber den Säuren hervorruft, so wäre auch bei der Meiostagminreaktion an die veränderte OH-Ionenkonzentration zu denken.

Dafür würden auch die Untersuchungen von Sturrock (119) sprechen. Er fand bei allen Carcinomsera eine gesteigerte Alkalität im Vergleich mit den anderen Sera, die nur in den einzelnen Fällen diese Reaktion zeigten.

Man muß also nach bis jetzt bekannten Tatsachen an folgende Möglichkeiten für die Erklärung des Wesens der Meiostagminreaktion denken:

I. Veränderungen im chemischen Sinne.
   1) Vermehrung der Lipoide, speziell der Fettsäuren, und Verminderung des Gehalts an Cholesterin und ähnlichen Stoffen.
   2) Veränderung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung der Eiweißstoffe, besonders Albumine und Globuline wie ihrer Abbauprodukte Peptone und Albumosen, und Veränderung ihres Verhältnisses zueinander.
      a) Verminderung des Eiweißgehaltes — Hypalbuminose und Hydrämie.
      b) Vermehrung der Albumine und Peptone.

II. Veränderungen im physikalisch-chemischen Sinne. Veränderung der OH- bzw. H-Ionenkonzentration und Veränderung des Absorptions- bzw. Bindungsvermögens gegenüber Säuren oder Basen.

III. Veränderungen im physikalischen Sinne. Haftlockerung einzelner Bestandteile.
  a) In pathologischen Fällen (Carcinom, Schwangerschaft usw.).
  b) Künstlich:
    α) durch Erhitzung;
    β) durch Verdünnung;
    γ) durch Schütteln.

II. Eigene Versuche.

In den folgenden Versuchen wurden nur die wichtigsten prinzipiellen Fragen einer experimentellen Prüfung unterzogen. Die meisten Versuche fielen negativ aus und unterstützen dadurch per exclusionem die einzelnen positiv ausgefallenen.

a) Einfluß der alkalischen bzw. sauren Reaktion.

Wichtig schien es zunächst, den Einfluß der sauren bzw. der alkalischen Reaktion auf die Meiostagminreaktion zu untersuchen. Ich führte diese Versuche zunächst mit reinem destillierten Wasser aus, indem ich die sehr verdünnten Lösungen von Säuren und Basen im Wasser verwendete. Nach einer großen Reihe von Untersuchungen bekam ich zuletzt vollständig übereinstimmende Resultate. Ich führe eine Serie dieser Untersuchungen in der Tabelle XXI an.

Tabelle XXI.

	Antigen	1 ccm H_2O		1 ccm $^1/_{10}$ NaOH		1 ccm $^1/_{10}$ HCl		$^1/_{10}$ HCl 0,5 ccm $^1/_{10}$ NaOH 0,5 ccm	
		M.R.	Ausschlag	M.R.	Ausschlag	M.R.	Ausschlag	M.R.	Ausschlag
9 ccm H_2O	o. A.[1]	52,8		53,7		53,7		53,6	
	m. A.[2]	59,5	+ 6,7	67,5	+ 13,8	56,2	+ 2,5	56,2	+ 2,6
9 ccm NaCl 0,85-proz.	o. A.	52,5		53,4		53,5		54,3	
	m. A.	62,4	+ 8,9	77,2	+ 23,8	56,5	+ 3,0	57,2	+ 2,9

Dieselben Resultate bekam ich vor und nach dem Erhitzen auf 50° C.

1) o. A. = ohne Antigen.
2) m. A. = mit Antigen.

Die Tabelle XXI ergibt, daß

1) in allen Fällen die physiologische Kochsalzlösung den Ausschlag mehr oder weniger vergrößert (besonders trifft das für die alkalische Lösung zu);

2) der Ausschlag bei der alkalischen Lösung bei weitem denjenigen bei den sauren und neutralen Lösungen bzw. bei dem reinen Wasser übertrifft;

3) die saure bzw. neutrale Lösung viel schwächer mit Linol-Rizinolsäure reagiert als das reine Wasser.

Dieser Befund würde zugunsten der erhöhten Reaktionsfähigkeit der OH-Ionenkonzentration des Serums sprechen, was mit den Angaben von Sturrock (119) über Alkalität der Carcinomsera und mit den Untersuchungsergebnissen der Epiphaninreaktion im Einklang stehen würde.

Bei der Untersuchung dieser Verhältnisse im Serum selbst ergab sich jedoch das Gegenteil.

Es wurden zu verschiedenen Sera verschiedene Mengen von alkalischen bzw. von sauren Lösungen hinzugesetzt.

Tabelle XXII.

		Hammelserum			Rinderserum		
		o. A.	m. A.	Ausschlag	o. A.	m. A.	Ausschlag
Serum allein	H_2O	55,8	55,5	— 0,3	.	.	.
	NaCl	57,4	57,4	+ 0	58,0	58,6	+ 0,6
0,1 n/$_{10}$ NaHO	H_2O	54,8	54,7	— 0,1	.	.	.
	NaCl	57,5	58,0	— 0,5	.	.	.
0,1 n/$_1$ NaOH	H_2O	.	.	.	.	.	.
	NaCl	.	.	.	.	.	.
0,2 n/$_1$ NaOH	H_2O	.	.	.	.	.	.
	NaCl	.	.	.	64,2	70,5	+ 6,3
0,2 n/$_{10}$ KOH	H_2O	.	.	.	.	.	.
	NaCl	.	.	.	.	.	.
0,1 n/$_{10}$ HCl	H_2O	55,4	56,0	+ 0,6	.	.	.
	NaCl	57,2	58,0	+ 0,8	.	.	.
0,1 n/$_1$ HCl	H_2O	.	.	.	.	.	.
	NaCl	.	.	.	.	.	.
0,2 n/$_1$ HCl	H_2O	.	.	.	.	.	.
	NaCl	.	.	.	65,0	76,0	+ 11,0
0,2 n/$_{10}$ Buttersäure	H_2O	.	.	.	.	.	.
	NaCl	.	.	.	.	.	.

		Normales Menschenserum			Tumorserum (Pleuraexsudat)		
		o. A.	m. A.	Ausschlag	o. A.	m. A.	Ausschlag
Serum allein	H_2O	54,8	54,4	— 0,4	54,6	57,6	+ 3,0
	NaCl	55,5	56,2	+ 1,0	55,6	60,4	+ 4,8
0,1 $n/_{10}$ NaOH	H_2O	.	.	.	.	.	.
	NaCl	.	.	.	.	.	.
0,1 $n/_1$ NaOH	H_2O	.	.	.	54,8	61,6	+ 6,8
	NaCl	.	.	.	59,4	67,2	+ 7,8
0,2 $n/_1$ NaOH	H_2O	.	.	.	.	.	.
	NaCl	.	.	.	.	.	.
0,2 $n/_{10}$ KOH	H_2O	53,7	54,4	+ 0,7	54,0	59,0	+ 5,0
	NaCl	55,1	56,2	+ 1,1	55,0	61,2	+ 5,2
0,1 $n/_{10}$ HCl	H_2O	.	.	.	.	.	.
	NaCl	.	.	.	.	.	.
0,1 $n/_1$ HCl	H_2O	.	.	.	60,4	72,3	+ 11,9
	NaCl	.	.	.	62,3	78,0	+ 15,7
0,2 $n/_1$ HCl	H_2O	.	.	.	.	.	.
	NaCl	.	.	.	.	.	.
0,2 $n/_{10}$ Buttersäure	H_2O	54,3	55,7	+ 1,4	54,5	57,5	+ 3,0
	NaCl	55,0	57,5	+ 2,5	55,5	61,0	+ 5,5

Bei der Betrachtung der Tabelle XXII sieht man, daß nicht die alkalischen Sera, sondern die sauren einen bedeutend stärkeren Ausschlag zeigen. Vergleicht man die einzelnen Kolumnen untereinander, so ersieht man, daß das positive Serum des Pleuraexsudates eine erhöhte Reaktionsfähigkeit bei Zusatz von konzentrierteren Lösungen zeigt gegenüber dem Zusatz von verdünnten Lösungen, und zwar ist der Unterschied größer, als dies beim Normalserum der Fall ist. Das Rinderserum reagiert auf Zusatz von 0,2 ccm $n/_1$ HCl mit 4,8 Tropfen schwächer als das positive Pleuraexsudat mit 0,1 ccm HCl, mit 0,2 ccm $n/_1$ NaOH reagiert dagegen das erstere nur um 1,3 Tropfen schwächer als das letztere mit 0,1 ccm $n/_1$ NaOH. Andererseits zeigt das Normalserum bei den schon verhältnismäßig verdünnten Lösungen einen größeren Unterschied in der Wirkung der alkalischen bzw. sauren Lösung auf den Ausfall der Reaktion als das Tumorserum.

Auch an dieser Tabelle zeigt der Zusatz von Wasser einen eminenten Unterschied gegenüber dem Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung, was aber hier besonders bei der sauren Reaktion ausgesprochen ist.

Weiter ergibt sich aus dieser Tabelle eine deutlich sichtbare Beeinflussung des Ausfalls der Reaktion durch den Zusatz von selbst sehr schwachen Verdünnungen von Säuren organischer und anorganischer Natur, was den Befund von Izar über die Wirkung der Vermehrung der Fettsäuren im Serum auf den Ausschlag bei der Meiostagminreaktion bestätigt und im wesentlichen erweitert. Es ist also nicht allein die Fettsäure imstande, den Ausschlag zu vergrößern, sondern jede Säure (auch jede anorganische) kann das bewirken. Nur muß die Säure eine gewisse Konzentration erreichen, um einen Ausschlag hervorrufen zu können.

Es bewirkt also eher die saure Reaktion des Serums einen positiven Ausschlag. Diese Wirkung beruht wahrscheinlich auf der gesteigerten Dissoziation der H- oder OH-Ionen und auf der Haftlockerung der einzelnen Bestandteile durch Zusatz von Säure. Es könnte sich aber auch um eine Befreiung eines Körpers aus einer schon vorher vorhandenen Verbindung oder eine Entstehung neuer Verbindungen aus den vorher vorhandenen einzelnen Bestandteilen mit der zugefügten Säure handeln, die eine Veranlassung zum Auftreten von neuen, eine größere Kapillaraktivität besitzenden Stoffen im Serum geben.

Der folgende Versuch jedoch läßt die sehr naheliegende Annahme des sauren Charakters der positiv reagierenden Sera wieder zweifelhaft erscheinen.

Nach Untersuchungen von Deetjen und Fränkel (120) ergab sich, daß beim Zusatz von Phosphatmischung zum Serum und beim Erhitzen desselben im Salzwasserbade über 100° für eine halbe Stunde die positive Ninhydrinreaktion viel häufiger eintritt als mit Hilfe der Originalmethode nach Abderhalden, und zwar oft ohne Zusatz der Organstücke zum Serum. Es ergab sich dabei, daß zu den letzteren viele von denjenigen Sera gehören, die mit der Meiostagminreaktion positive Resultate liefern.

Ich setzte eine Reihe von positiven und negativen Sera mit der Meiostagminreaktion an, indem ich als Antigen das Linol-Rizinolsäuregemisch benutzte. Nachdem ich die Tropfenzahl der Sera gezählt hatte, wurden je 5 ccm von dem mit 0,85-proz. Kochsalzlösung verdünnten Serum mit und ohne

Antigen in Dialysierschläuche gefüllt, mit Toluol überschichtet und in Gläschen mit 25 ccm destillierten Wassers gestellt, die auch mit Toluol überschichtet wurden und für 24 Stunden im Brutschrank bei 37° C blieben. Nach 24 Stunden versetzte ich von dem Dialysat je 10 ccm mit je 0,2 ccm Ninhydrinlösung und kochte nach den Angaben von Abderhalden je 1 Minute über der Flamme. Es trat dabei keine Veränderung und Verfärbung ein. Wurden aber nachträglich zu je 10 ccm noch 0,25 ccm des Phosphatgemisches hinzugesetzt, wodurch die Reaktion neutral gehalten wird, und im Wasserbade über 100° eine halbe Stunde gekocht, so färbten sich die Dialysate von Tumorsera ohne Antigenzusatz mehr oder weniger deutlich blaurot, während diejenigen von Normalsera, ebenso die von den Tumorsera mit Antigen keine Färbung zeigten. Es wurden nachher dieselben Dialysate noch stalagmometrisch untersucht. Ich bekam nur bei einer Serie der von mir untersuchten Fälle eine Vergrößerung der Tropfenzahl bei den gefärbten Flüssigkeiten, dagegen nicht bei den ungefärbten Dialysaten. Ich führe diese Serie hier an.

Tabelle XXIII.

Klinische Diagnose	Antigen	M.R.	Ausschlag	Färbung	Tropfenzahl des Dialysats	Ausschlag
Normal	o. A.	55,7		—	53,5	
	m. A.	56,6	0,9	—	53,5	0
Ca. ventriculi	o. A.	55,5		++	54,5	
	m. A.	58,0	2,5	—	53,5	— 1,0
Epitheliom	o. A.	55,2		+	54,6	
	m. A.	57,2	2,0	—	54,0	— 0,6
Ca. peritonei (Ascites-	o. A.	57,6		+	53,8	
flüssigkeit)	m. A.	65,0	7,4	—	53,5	— 0,3

Es ist an der Hand dieser Tabelle anzunehmen, daß im Tumorserum Abbau- bzw. Hydrolysierungsprodukte des Eiweißes vorhanden sind und durch Zusatz von Phosphatmischung und Kochen bei 100° in den Dialysaten zum Vorschein kommen. Diese Abbauprodukte gehen durch die Dialysierschläuche hindurch, geben mit Ninhydrinlösung eine Blau- bis Rotfärbung und verursachen im Dialysat eine Oberflächenspannungsverminderung. Es ist vor allem wichtig, daß

diese Stoffe im Normalserum fehlen oder in geringer Menge vorhanden sind, ebenso lassen sich die Dialysate von Tumorsera mit vorhergehendem Zusatz von Linol-Rizinolsäuregemisch nicht nachweisen. Es übt also die Säure eine Einwirkung auf die dialysablen Produkte in der Richtung aus, daß sie sie vermutlich entweder bindet oder zerstört. Alles würde aber gegen eine Annahme des sauren Charakters des Tumorserums sprechen.

b) Einfluß des Albumin- und Peptonzusatzes auf die Reaktion.

Aus der Tabelle XXIII ergibt sich auch eine Berechtigung für die Annahme, es könnten im Tumorserum Abbauprodukte von Eiweißstoffen vorhanden sein, — allerdings könnte es sich um Kunstprodukte handeln, die durch das Kochen entstehen.

Ich prüfte deswegen die Wirkung der Albumine bzw. der Peptone auf den Ausfall der Meiostagminreaktion, und zwar zuerst in wässeriger Lösung und dann beim Zusatz zum Normal- und Tumorserum. Ich benutzte dabei Albumin aus dem Blute und Pepton aus dem Albumin (Merck).

Tabelle XXIV.

	Albuminlösung 1:100			Peptonlösung 1:100		
	o. A.	m. A.	Ausschlag	o. A.	m. A.	Ausschlag
Allein	53,7	67,5	+ 13,8	61,0	74,0	+ 13,0
0,2 $n/_{10}$ NaOH	57,0	75,0	+ 18,0	59,2	76,0	+ 16,8
0,2 $n/_{10}$ HCl	62,0	70,0	+ 8,0	63,2	72,5	+ 9,3

Diese Tabelle zeigt das verschiedene Verhalten des Albumins und Peptons gegenüber der Natronlauge. Während die Natronlauge bei der Albuminlösung die Oberflächenspannung vermindert, so daß die Tropfenzahl von 53,7 auf 57,0 steigt, vermehrt sie die Oberflächenspannung bei der Peptonlösung, so daß die Tropfenzahl von 61,0 auf 59,2 sinkt. Der Ausschlag beim Zusatz von Linol-Rizinolsäure ist in beiden Fällen fast gleich. Der Unterschied zwischen der Wirkung der Base und der Säure auf die Reaktion bei den Albumin- und Peptonlösungen steht zwischen derjenigen des Serums und des

destillierten Wassers. In anderen Mengen und Konzentrationen verwendete Säuren und Basen veränderten im wesentlichen diese Verhältnisse sehr wenig.

Es würde sehr naheliegend sein, anzunehmen, daß beim Vorhandensein des Peptons im Serum die Reaktion des Serums alkalisch sein müßte, um die oberflächenspannungsvermindernde Wirkung des Peptons zu verhüllen und der Oberflächenspannung der peptonfreien Sera gleichzumachen.

Obgleich diese Annahme im vorhergehenden, besonders aber in den Angaben über Peptonurie bzw. Albumosurie und über verminderte Oberflächenspannung des Harns bei gewissen pathologischen Fällen eine große Stütze findet, bestätigt sie sich nicht beim Zusatz zum Normal- bzw. Tumorserum. Es erfolgt dabei keine wesentliche Veränderung, die auf die spezifische Wirkung des Peptons zurückzuführen wäre.

Tabelle XXV.

	Rinderserum						Tumorserum (Ascitesflüssigkeit)					
	Allein		+ 0,1 Albuminlösung 1:10		+ 0,1 Peptonlösung 1:10		Allein		+ 0,1 Albuminlösung 1:10		+ 0,1 Peptonlösung 1:10	
	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.
Allein o. A.	56,0		56,6		60,2		65,3		56,6		60,7	
Allein m. A.	57,3	+ 1,3	57,4	+ 0,8	61,0	+ 0,8	63,3	+ 7,0	61,1	+ 4,5	64,6	+ 3,9
0,2 n/10 NaOH o. A.	57,2		57,4		60,0		57,1		57,4		59,4	
0,2 n/10 NaOH m. A.	58,5	+ 1,3	58,0	+ 0,6	61,0	+ 1,0	63,1	+ 6,0	63,0	+ 5,6	63,4	+ 4,0
0,2 n/10 HCl o. A.	56,0		56,4		59,8		56,4		57,2		60,3	
0,2 n/10 HCl m. A.	59,3	+ 3,3	59,2	+ 2,8	62,7	+ 2,9	63,4	+ 7,0	63,6	+ 6,4	65,2	+ 4,9

Die Peptonlösung vermindert zwar die absolute Oberflächenspannung des Serums, was das Albumin nicht tut, vergrößert aber den Ausschlag nicht, sondern vermindert ihn im Gegenteil. Auffallend ist auch in diesem Fall für die Konzentration der zugesetzten Chemikalien der Unterschied in der Wirkung der Säure und der Base auf das normale und das positive Serum. Während beim normalen Serum die Säuren den Ausschlag bedeutend vergrößern, verändert die Base ihn fast gar nicht. Bei der positiven Ascitesflüssigkeit verhalten sich die Säure und Base ziemlich gleich. Es steht also die

Ascitesflüssigkeit nach ihrem Verhalten gegenüber Säuren und Basen zwischen Normalserum und Wasser. Bei dem letzteren bekommt die Base das Uebergewicht. Es trifft also in diesem Fall auch für diese Eigenschaft die von Izar (75) gemachte Beobachtung zu, daß die positiven Sera in ihrem Verhalten zwischen dem Normalserum und Wasser stehen.

Wir können demnach feststellen, daß trotz der auffallenden Uebereinstimmung der Fälle mit Peptonurie bzw. Albumosurie und positiver Meiostagminreaktion der positive Ausschlag nicht durch Pepton bedingt ist.

Auch nach intravenösen Einspritzungen von Peptonlösungen beim Kaninchen (9mal während eines Monats zu 5 ccm 4-proz. Lösung) erzielte ich bei dem Serum keine größeren Ausschläge mit Linol-Rizinolsäure als Antigen als vor der Einspritzung.

Izar und Mammana (121) bekamen auch keine „spezifischen Antikörper“, die durch die Meiostagminreaktion nachgewiesen werden könnten, durch wiederholte intravenöse Injektionen von Myristilpepton, Elastin, Edestin, Histidin und Albumoseemulsionen. Allerdings bekamen Ascoli und Izar (122) durch intraperitoneale Einspritzung von Witte-Pepton in Gelatine oder Pferdeserum einen erhöhten Ausschlag beim Zusatz derselben Substanzen als Antigene in vitro. Bei der deutlichen Tendenz speziell des Peptons, die Oberflächenspannung des Serums zu vermindern, ist es nicht ausgeschlossen, daß eine durch Einspritzung bedingte Lockerung des Serums, besonders wenn es noch in vitro vorher auf das Zehnfache verdünnt ist, dieses gegen die Einwirkung kapillaraktiver Stoffe empfindlicher macht, als es vor der Einspritzung ist.

c) Einfluß des Lipoidzusatzes auf die Reaktion.

Was das Vorhandensein freier Fettsäuren im Tumorserum anbelangt, für das Izar in seiner letzten Arbeit eintritt und für das er Beweise zu liefern sucht, so sprechen meine Untersuchungen mehr für die antigenähnliche Wirkung der vorher zugesetzten Fettsäuren, was auch aus der Tabelle XXVI ersichtlich ist. Izar (75) behauptet, daß 1) der Zusatz von 0,01 ccm 1-proz. Oelsäurelösung die Oberflächenspannung des Serums nicht vermindert, und 2) der vorhergehende Zusatz von Oelsäure, nachträglich mit Linol-Rizinolsäure angesetzt, den Ausschlag nur beim Normalserum, nicht aber beim Tumorserum vergrößert.

Tabelle XXVI.

1 ccm	Rinderserum		Normalserum		Tumorserum (Ascitesflüssigkeit)	
	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.
+ 9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	54,5		54,6		56,4	
+ 0,01 ccm 1-proz. alkohol. Oelsäurelsg. + 9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	55,0	+ 0,5	54,8	+ 0,2	57,4	+ 1,0
+ 0,01 ccm (0,2 Ri. + 0,5 Li. + 10 abs. Alkohol) Lösung + 9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	55,5	+ 1,0	55,5	+ 0,9	65,5	+ 9,1
+ 0,01 ccm 1-proz. alkohol. Oelsäurelsg. + 0,01 ccm (0,2 Ri. + 0,5 Li. + 10 abs. Alkohol) Lösung + 9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	56,3	+ 1,8	55,8	+ 1,2	68,0	+ 11,6

Es addieren sich also die Oelsäure und das Linol-Rizinolsäuregemisch und zwar beim Normalserum ebenso wie bei der Ascitesflüssigkeit. Die Oelsäure allein bedingt bei der letzteren einen größeren Ausschlag als beim Normalserum, was der Wirkung jeder höheren Fettsäure entspricht. Jedoch ist es nicht ausgeschlossen, daß im Tumorserum die Fettsäuren im Spiele sind und die positive Reaktion bedingen, obgleich es sich bei dem Versuche um eine „antigenähnliche" Wirkung handelt.

Gegen die Vermehrung der Fettsäuren spricht der negative Ausfall meiner Versuche beim Kaninchen. Ich injizierte täglich intravenös Emulsionen von Linol-Rizinolsäure in verschiedenen Mengen, ohne den Ausschlag im Serum vergrößern zu können.

Mit dem Zusatz von Cholesterin erzielte ich vollständig andere Resultate als Izar (75). Vielleicht beruht das darauf, daß ich das Cholesterin (und zwar 0,65 g trockenen Cholesterins — nicht Emulsion — zu 1 ccm Serum zusetzte, dann von dem ungelösten Teil des Cholesterins abfiltrierte) vor dem Zusatz des Antigens dem Serum zufügte, um den Versuch dem vorhergehenden mit dem Oelsäurezusatz ähnlich zu gestalten.

Tabelle XXVII.

1 ccm	Normal		291 parametr. Infiltration		301 Ca. cardiae		303 Gravidität		304 Gravidität	
	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.	M.R.	Ausschl.
+9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	56,3		57,1		56,5		56,5		56,2	
+ 0,01 ccm (0,2 Ri., 0,5 Li., 10 abs. Akohol) Lösung +9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	56,5	+ **0,2**	58,2	+ **1,1**	58,0	+ **1,5**	53,3	+ **1,8**	58,4	+ 2,2
+ Cholesterin +9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	56,3	(0)	55,7	(— 1,4)	55,3	(— 1,2)	55,3	(— 1,2)	55,8	(— 0,4)
+ Cholesterin + 0,01 ccm (0,02 Ri., 0,5 Li., 10 abs. Alkohol) Lösung +9 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	57,1	+ **0,8**	57,3	+ **1,6**	58,0	+ **2,7**	59,0	+ **3,7**	58,6	+ **2,6**

Die Resultate sind sehr schwankend, es scheint aber, daß bei positiven Sera eine größere Tendenz besteht, beim Zusatz von Cholesterin einen erhöhten Ausschlag zu zeigen, als bei den negativen. Im allgemeinen vergrößert der Zusatz von Cholesterin die Oberflächenspannung des Serums.

d) Einfluß von physikalischen Zustandsänderungen des Serums auf die Reaktion.

Nachdem so die Versuche, durch den Zusatz bestimmter chemischer Substanzen zum Serum eine Erklärung für den positiven Ausfall der Reaktion zu finden, im wesentlichen ein negatives Resultat ergeben hatten, versuchte ich auf anderem Wege zum Ziele zu kommen.

α) Einfluß der Verdünnung.

Bekanntlich wies Grawitz (85) im Jahre 1893 auf die regelmäßig bei Carcinomkranken und zu verschiedenen Zeiten auch bei Tuberkulösen vorkommende Hydrämie hin. Um diesen Befund für die Erklärung des Wesens der Meiostagmin-

reaktion verwenden zu können, prüfte ich verschiedene Sera, negative und positive, indem ich zu den beiden Wasser bzw. physiologische Kochsalzlösung oder Ringersche Lösung zusetzte, und andererseits, indem ich das positive Serum im Vakuum einengte. Dabei bekam ich übereinstimmende Resultate, wie aus den Tabellen XXVIII—XXXII ersichtlich ist.

Tabelle XXVIII.

	Nur 1 ccm Serum			½ ccm Serum + ½ ccm H_2O		
	o. A.	m. A.	Ausschlag	o. A.	m. A.	Ausschlag
Rinderserum I	56,0	57,3	+ 1,3	55,8	61,6	+ 5,8
„ II	56,0	58,0	+ 2,0	55,2	63,5	+ 8,3
Tumorserum (Ascitesflüssigkeit)	56,3	63,5	+ 7,2	55,5	71,3	+ 16,8

Tabelle XXIX.

	Nur 1 ccm Serum			½ ccm Serum + ½ ccm NaCl physiolog.		
	o. A.	m. A.	Ausschlag	o. A.	m. A.	Ausschlag
Rinderserum III	55,8	57,6	+ 1,8	55,4	66,3	+ 7,9

Tabelle XXX.

	Normalserum			Tumorserum (Ascitesflüssigkeit)		
	o. A.	m. A.	Ausschlag	o. A.	m. A.	Ausschlag
1 ccm Serum + 0 „ Ringer	56,4	57,3	+ 0,9	56,3	63,0	+ 6,7
0,9 ccm Serum + 0,1 „ Ringer	56,4	57,5	+ 1,1	56,2	64,8	+ 8,6
0,8 ccm Serum + 0,2 „ Ringer	56,2	57,5	+ 1,3	56,1	66,0	+ 9,9
0,7 ccm Serum + 0,3 „ Ringer	56,0	58,0	+ 2,0	56,0	66,5	+ 10,5
0,6 ccm Serum + 0,4 „ Ringer	55,7	59,0	+ 3,3	55,8	68,0	+ 12,2
0,5 ccm Serum + 0,5 „ Ringer	55,5	59,5	+ 4,0	55,8	70,0	+ 14,2
0 ccm Serum 1 „ Ringer	53,8	62,3	+ 8,5			

Tabelle XXXI.

	Albuminlösung 1:100			Peptonlösung 1:100		
	o. A.	m. A.	Ausschlag	o. A.	m. A.	Ausschlag
1 ccm Lösung + 0 „ Ringer	55,7	69,1	+ 13,4	62,0	77,0	+ 15,0
0,5 ccm Lösung + 0,5 „ Ringer	54,6	69,3	+ 14,7	61,2	74,2	+ 13,0

Tabelle XXXII.

	Tumorserum (Ascitesflüssigkeit)		
	o. A.	m. A.	Ausschlag
	56,8	63,5	+ 6,7
auf $^{27}/_{40}$ eingeengt	58,0	61,3	+ 3,3
„ $^{30}/_{40}$ „	57,4	62,2	+ 4,8
die letzte Einengung mit H_2O ersetzt	56,4	64,0	+ 8,0
die letzte Einengung mit Ringerscher Lösung ersetzt	57,1	63,1	+ 6,0
auf $^{20}/_{40}$ eingeengt	58,3	61,3	+ 3,0
diese Einengung mit H_2O ersetzt	57,3	64,2	+ 6,9

Wie sich aus diesen Tabellen ergibt, erhöht die Verdünnung der Sera mit Wasser, mit physiologischer Kochsalzlösung oder mit Ringerscher Lösung die Ausschläge, und zwar geht diese Erhöhung der Ausschläge bei der positiven Ascitesflüssigkeit viel rascher in die Höhe, als dies beim Normalserum der Fall ist. Andererseits ruft die Einengung der positiven Ascitesflüssigkeit eine Verminderung der Ausschläge hervor.

Daß nicht allein die hohen Ausschläge der zugesetzten Lösungen diese Wirkungen ausüben, beweist der Unterschied der Erhöhungen der Ausschläge beim positiven und Normalserum. Es ist hier sicher eine rein physikalische Erscheinung im Spiele. Es könnte sich vielleicht hier um eine Haftlockerung des Milieus im Sinne von Traube (110) handeln, die durch Zusatz von Wasser oder anderen Flüssigkeiten zum Serum mehr oder weniger stark hervorgerufen wird.

β) Einfluß des Erhitzens.

Auch die von Izar beobachteten Erhöhungen der Ausschläge durch das Erhitzen bis zu einer bestimmten Temperatur würde durch Haftlockerung der Bestandteile erklärt werden können, indem im Tumorserum eine größere Labilität der Fettsäureproteinverbindungen gegenüber Erhitzen im Spiele sein könnte[1]).

Auch ich fand bei dem halbstündigen Erhitzen auf 54° C eine Zunahme der Tropfenzahl oder der Differenz zwischen Serum ohne und mit Antigen, was aus den Tabellen XXXIII und XXXIV zu ersehen ist.

Tabelle XXXIII.

Einfluß der Inaktivierung.

No.	Diagnose	Aktives Serum			Inaktives Serum		
		o. A.	m. A.	Ausschlag	o. A.	m. A.	Ausschlag
				a) Steigen der Differenz.			
489	Lupus	56,8	58,0	+ 1,2	57,0	60,2	+ 3,2
514	Gravidität	56,1	57,9	+ 1,8	57,3	66,4	+ 9,1
533	Carcinom	56,3	59,2	+ 2,9	57,0	61,0	+ 4,0
534	„	56,3	57,4	+ 1,1	57,2	59,1	+ 1,9
541	Sarkom	55,8	57,2	+ 1,4	56,0	58,9	+ 2,9
551	Gravidität	55,3	57,4	+ 2,1	56,4	59,1	+ 2,7
				b) Steigen der Tropfenzahl an sich.			
545	Ca. ventriculi	55,2	57,2	+ 2,0	56,5	58,0	+ 1,5

γ) Einfluß des Schüttelns.

Aehnlich würde die Zunahme der Ausschläge der Sera nach dem Schütteln sehr für die physikalische Erklärung sprechen.

---

1) Daß die Austreibung des CO_2 beim Erhitzen und die dadurch bedingte stärkere alkalische Reaktion des Serums für den Anstieg der Ausschläge resp. Tropfenzahl verantwortlich wäre, ist nach den früheren Untersuchungen über den Einfluß der alkalischen und sauren Reaktion auf die Meiostagminreaktion unwahrscheinlich.

Tabelle XXXIV.

	Ohne Schütteln			$^1/_2$ Stunde geschüttelt			2 Stunden geschüttelt			6 Stunden geschüttelt		
	o. A.	m. A.	Aus-schl.	o. A.	m. A.	Aus-schl.	o. A.	m. A.	Aus-schl.	o. A.	m. A.	Aus-schl.
	0,01 ccm L.R.			0,01 ccm			0,01 ccm			0,01 ccm		
Rinderserum	56,7	57,8	+ 1,1	56,5	59,2	+ 2,7	—	—	—	55,6	58,8	+ 3,2
Kalbsserum	55,8	57,6	+ 1,8	—	—	—	52,8	58,4	+ 2,6	55,1	58,5	+ 3,4
	0,02 ccm						0,02 ccm					
449	56,8	62,1	+ 5,3				57,4	64,2	+ 6,8			
450	56,5	60,7	+ 4,2				58,3	63,0	+ 4,7			
	0,01 ccm						0,01 ccm					
462	56,8	59,0	+ 2,2				57,2	60,2	+ 3,0			
545	55,2	57,1	+ 1,9				56,3	58,2	+ 1,9			

In anderen Versuchen wurde eine Zunahme der Tropfenzahl des Serums an sich beobachtet, ohne daß die Differenz anstieg. Ja Hara (49) berichtet sogar über eine Abnahme der Differenz, wobei er wohl die Zunahme der Tropfenzahl an sich nicht berücksichtigt haben dürfte.

Auf Grund der letzten Untersuchungen bin ich geneigt, die physikalischen Zustandsänderungen im Serum als einen wesentlichen, aber nicht den einzigen Faktor für die Erklärung des Wesens der Meiostagminreaktion anzunehmen.

Vielleicht handelte es sich auch hier um eine Ausfällung der Globuline, wie sie bei dem Schütteln und der Inaktivierung des Komplements (Jakoby und Schütze, Schmidt und Liebers) angenommen wird. Vielleicht aber spielt auch der CO_2-Gehalt des Serums eine Rolle, was noch durch weitere Versuche zu erweisen wäre.

Zusammenfassung.

I. Verwendbarkeit der Meiostagminreaktion.

1) Die Verwendung der Meiostagminreaktion für klinische diagnostische Zwecke ist nur für zwei Gruppen von Fällen einzuschränken:

a) für die Carcinome des Magen-Darmtraktus;
b) für die Diagnose der Schwangerschaft auch im Anfange der Gravidität bei vollständig gesunden Frauen.

2) Mit großer Vorsicht ist die Meiostagminreaktion bei Carcinomen des weiblichen Genitaltraktus zu verwenden.

3) Absolut unbrauchbar ist die Meiostagminreaktion bei Hautcarcinomen und Carcinomen der Leber.

4) Vor der Diagnose auf Carcinom oder auf Schwangerschaft müssen folgende Krankheiten ausgeschlossen sein, die auch einen positiven Ausschlag erzeugen:
a) Diabetes mellitus,
b) Urämie,
c) Infektionskrankheiten mit Fieber,
d) schwere Tuberkulose,
e) chronische Knochen- und Gelenkentzündungen,
f) Lebercirrhose,
g) oft Lues,
h) oft Sarkome.

II. Wesen der Meiostagminreaktion.

1) Die Azidität des Serums bedingt eher einen positiven Ausfall der Reaktion als die Alkalität.

2) Die Anwesenheit der Eiweiße (Albumine und Peptone) bedingt nicht den positiven Ausfall der Reaktion.

3) Die Fettsäuren erhöhen den Ausschlag der Reaktion — Möglichkeit der Annahme der Vermehrung der Fettsäure in den positiv reagierenden Sera.

4) Die physikalische Zustandsänderung des Serums durch Erhitzen, Verdünnung und Schütteln erhöht den Ausschlag. Die Einengung im Vakuum vermindert ihn.

5) Sehr wahrscheinlich ist die Annahme einer physikalischen Zustandsänderung der positiv reagierenden Sera im Sinne der Haftlockerung des Milieus.

Die Arbeit wurde auf Veranlassung von Herrn Dr. Ernst Fränkel in der serologischen Abteilung des Krebsinstituts ausgeführt.

Literaturverzeichnis.

1) Musculus, Chemisches Centralblatt, 1864, p. 922.
2) Bodländer und Traube, Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, Bd. 19, 1886, p. 1871.
3) Traube und Blumenthal, Arch. f. exp. Pathol. u. Therapie, Bd. 2, 1905, p. 117.
4) Kunoff, Inaug.-Diss. Berlin, 1907.
5) Billard, Compt. rend. Soc. Biol., T. 59, p. 85.
6) Kascher, Inaug.-Diss. Berlin, 1907.
7) Bickel, Deutsche med. Wochensch., 1905, No. 28.
8) Zuntz, Arch. di Fisiol., Vol. 7, 1909, p. 137.
9) Török, Centralbl. f. Physiol., Bd. 20, 1906, p. 206.
10) Kisch und Renertz, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 20, p. 1097.
11) Iscocesco, Compt. rend. Soc. Biol., . . .
12) Ascoli, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 2.
13) Traube, Berichte der Deutschen Chem. Gesellsch., Bd. 20, 1887, p. 2644.
14) Ascoli und Izar, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 8.
15) — — ebenda, 1910, No. 22.
16) — — ebenda, 1910, No. 41.
17) De Agostini, Med. Klinik, 1910, No. 29; Biochim. e Terap. sper., Vol. 2, 1910, p. 125.
18) Leidi, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 38, p. 117.
19) Micheli e Cattoretti, Pathologica, Vol. 2, 1910, No. 43, p. 385.
20) Izar, Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 30.
21) Verson, Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 30.
22) Stammler, Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft f. Chir. XL. Kongreß 1911 zu Berlin.
23) Kelling, Wiener klin. Wochenschr., 1911, No. 44.
24) Köhler und Luger, Wiener klin. Wochensch., 1912, No. 29.
25) Izar, Wiener klin. Wochenschr., 1912, No. 33.
26) — ebenda, 1912, No. 49.
27) — Biochem. Zeitschr., Bd. 40.
28) — Wiener klin. Wochenschr., 1913, No. 18.
29) — und Zuattro, Biochem. Zeitschr., Bd. 59.
30) — ebenda, Bd. 60, p. 320.
31) — und Ferro, ebenda, Bd. 59, p. 234.
32) — — ebenda, Bd. 59, p. 236.
33) Zarzysky, Wiener klin. Wochenschr., 1913, No. 8, p. 291.
34) Köhler und Luger, Wiener klin. Wochenschr., Bd. 8, 1913, p. 295.
35) Ferrari und Urizio, Wiener klin. Wochenschr., 1913, No. 16, p. 625.
36) Rosenberg, Deutsche med. Wochenschr., 1913, No. 20, p. 927.
37) D'Este, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 19; Corriere Sanit., Anno 21, 1910, No. 18, p. 273.

38) Micheli und Cattoretti, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 21, p. 1122; R. Accad. med. Torino, Sitzung 15. IV. 1910.
39) — — Biochim. e Terap. speriment., Vol. 2, 1910, p. 339.
40) Tedesco, Wiener med. Wochenschr., 1910, No. 26.
41) Stabilini, Berl. klin. Wochenschr., 1910, No. 32.
42) Kelling, Wiener klin. Wochenschr., 1911, No. 3.
43) Mioni, XXIII. Adunanza Soc. Ital. di Chirurgia, 8.—10. IV. 1911.
44) Schumowa-Trubina, Wratschebnaja Gazeta, 1913, No. 24, p. 872.
45) Brüggemann, Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir., Bd. 25, H. 6.
46) Halpern, Mitteil. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir., Bd. 26, H. 2.
47) Hara, Deutsche med. Wochenschr., 1913, No. 52.
48) Roosen und Blumenthal, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 12.
49) Hara, Deutsche med. Wochenschr., 1914.
50) Gasharrini, Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 33; Biochim. e Terap. speriment., Vol. 2, p. 256.
51) Micheli e Cattoretti, Natura e significato della reazione meiostagmica, Milano 1913.
52) Izar, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 16, p. 842; Biochim. e Terap. speriment., Vol. 2, 1910, p. 81.
53) Vallilo, Zeitschr. f. Infektionskrankheiten der Haustiere, Bd. 8, 1910, H. 6, p. 417; Biochim. e Terap. speriment., Vol. 2, 1910, p. 307.
54) Filia, Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 3, p. 160; Policlin., Sez. prat., Vol. 17, 1910, p. 1379.
55) Roncaglio, La Clin. vet., 1912, p. 633.
56) Wyschelessky, Zeitschr. f. Tuberkulose, Bd. 19, 1912, H. 3.
57) Bucco, Atti XXII. Congr. di Med. ind. Roma, 1913, p. 418.
58) Izar, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 4, p. 182.
59) — und Usuelli, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap., Bd. 6, 1910, p. 101.
60) Weinberg und Jonesco-Mihaiesti, Compt. rend. Soc. Biol., T. 68, 1910, No. 21.
61) Micheli und Cattoretti, Wiener klin. Wochenschr., 1910, No. 44, p. 1336.
62) Sensini, Giorn. Ital. Mal. vener., Vol. 52, 1911, Fasc. 4.
63) Pasini, Giorn. Ital. Mal. vener., Vol. 52, 1911, p. 241.
64) Fisichella, Pathologica, Vol. 3, 1911, No. 67.
65) Lecomte, Arch. intern. de Pharmacodyn. et de Thérap., T. 22, 1912, Fasc. 2, p. 55.
66) Bazzicapulo, Gazzet. internaz. di Med. e Clin., 1913, No. 17 Münch. med. Wochenschr., 1913, p. 1849.
67) Vincenzi, Pathologica, Vol. 2, 1910, p. 104.
68) Vigano, Münch. med. Wochenschr., Bd. 32, 1910, p. 1688.
69) Izar, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap., Bd. 11.

70) Silva, Tierärztl. Centralbl., 1912, p. 416; Biochim. e Terap. sper., Vol. 4, 1912, p. 76.
71) Ascoli, A., Deutsche med. Wochenschr., 1910, No. 43, p. 1927.
72) Julchiero, Wiener klin. Wochenschr., 1912, No. 43, p. 1700.
73) v. Subrzycki, Gynäkolog. Rundschau, 1913, H. 23, p. 1847.
74) Klein und Fränkel, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 12.
75) Izar, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap., Bd. 20, p. 303.
76) — Biochem. Zeitschr., Bd. 60.
77) Traube, Biochem. Zeitschr., Bd. 24, p. 348.
78) Bertolini, Biochem. Zeitschr., Bd. 28, p. 66.
79) Izar, Biochem. Zeitschr., Bd. 29, p. 13.
80) Traube, Biochem. Zeitschr., Bd. 10, p. 580.
81) Izar, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap., Bd. 10, 1910, p. 627.
82) Cattoretti, Wiener klin. Wochenschr., 1911, No. 18, p. 638.
83) Kammann, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap., Bd. 11, p. 178.
84) Krehl, Patholog. Physiologie, Leipzig 1912.
85) Grawitz, Deutsche med. Wochenschr., 1893, No. 51.
86) Strauer, Systematische Blutuntersuchungen bei Schwindsüchtigen und Krebskranken. Inaug.-Diss. Greifswald.
87) Embden und Knoop, Hoffm. Beitr., Bd. 3, p. 120.
88) v. Jaksch, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 6, p. 413; Bd. 8, p. 216.
89) Maixner, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 8, p. 234.
90) Krehl und Matthes, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 54, p. 501.
91) Schultes, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 58.
92) Martin, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. 40, p. 435.
93) Haak, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. 38.
94) Morawitz und Dietschy, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm., Bd. 54, p. 88.
95) Pacanowsky, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 9, p. 429.
96) Katz, Wiener med. Blätter, 1890, No. 45–52.
97) v. Aldor, Berl. klin. Wochenschr., 1899, No. 35, p. 766.
98) Brieger, Ueber das Vorkommen der Peptone im Harne. Inaug.-Diss. Breslau, 1888.
99) Müller, Zeitschr. f. klin. Med., Bd. 16, 1889, p. 151.
100) Grucco, Virchow und Hirsch, Jahresberichte, 1884, p. 242.
101) Hirschfeld, Beitrag zur Frage der Peptonurie. Inaug.-Diss. Dorpat, 1892.
102) Leick, Deutsche med. Wochenschr., 1896, p. 22.
103) Robitschek, Prager med. Wochenschr., 1896, No. 11.
104) Fischel, Arch. f. Gynäkol., Bd. 24, 1884, p. 423.
105) — Centralbl. f. Gynäkol., 1889, No. 27.
106) Köttnitz, Deutsche med. Wochenschr., 1888, No. 30, p. 613; 1889, No. 44, p. 960.

107) Midori Ito, Deutsches Arch. f. klin. Med., Bd. 71, 1901, p. 35.
108) Köttnitz, Deutsche med. Wochenschr., 1889, No. 45, p. 927.
109) — ebenda, 1889, No. 48, p. 949.
110) Traube, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap., Bd. 9, p. 247.
111) Weichardt, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 20, p. 954.
112) — Centralbl. f. Bakteriol., Bd. 17, Refer., p. 143.
113) — Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 32, p. 662.
114) Seifert, Deutsche med. Wochenschr., 1910, No. 50, p. 2333.
115) Mosbacher, Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 22, p. 1523.
116) Jozsa und Tokioka, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 12, p. 590.
117) Traube, Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 8, p. 368.
118) Izar, Münch. med. Wochenschr., 1911, No. 25, p. 1347.
119) Sturrock, Brit. med. Journ., Vol. 9, 1913, p. 780.
120) Deetjen und Fränkel, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 9, p. 466.
121) Izar und Mammana, Biochem. Zeitschr., Bd. 59, p. 247.
122) Ascoli und Izar, Münch. med. Wochenschr., 1910, No. 18, p. 955.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4527

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XXIV. No. 2.

[Aus der II. medizinischen Klinik der Charité zu Berlin (Geh. Med.-Rat Fr. Kraus) und der Seuchenabteilung des Kgl. Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ (Prof. Neufeld).]

Studien an aleukocytären Tieren:

I. Zur Analyse der Wirkungsweise antibakterieller Sera und chemotherapeutischer Mittel.

II. Beitrag zur Kenntnis der natürlichen Immunität (Resistenz) gegen Rotlauf.

Von Privatdozent Dr. **Lippmann**,
Assistent der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 18. August 1914.)

Bekanntlich ist oft sowohl bei antibakteriellen Immunseris wie bei chemotherapeutischen Stoffen die Frage erörtert worden, inwieweit die Körperzellen (Leukocyten etc.) bei ihrer Wirkung beteiligt sind. Die Wirkung der antibakteriellen Sera unterscheidet man neuerdings wohl ziemlich allgemein als bakteriolytische und bakteriotrope (phagocytäre). Was die chemotherapeutischen Mittel anbetrifft, so ist längst bekannt, daß ihr Wirkungsmechanismus ein komplizierter ist.

Das Atoxyl vermag, wie wohl zuerst Mesnil hervorhob, in vitro — auch in hohen Konzentrationen keine Trypanosomen abzutöten, während es im Tierheilversuch außerordentlich große trypanozide Eigenschaften entfaltet.

Von Uhlenhuth u. a. wurde zur Erklärung dieses paradoxen Verhaltens angenommen, daß die Arsenpräparate nicht direkt auf den Parasiten wirken, sondern die Körperzellen zur Bildung einer parasitoziden Substanz anregten.

Als Körperzellen in diesem Sinne kamen nach unseren immunisatorischen Erfahrungen nur eine Gruppe von Zellen in Frage: das Knochenmark, das ja nach den Untersuchungen von A. v. Wassermann, Pfeiffer und Marx u. a. die Quelle der Immunsubstanzen bildet, und dessen Tochterzellen,

die Leukocyten, über deren Rolle bei der Bekämpfung der Infektionen nach den Arbeiten eines Metschnikoff und Wright kein Wort mehr zu verlieren ist.

Die radioaktiven Substanzen, insbesondere das Thorium X, setzen uns nun in den Stand, diese große Zellgruppe elektiv aus dem Körper zu eliminieren. Wir sind dadurch in der Lage, eine große Anzahl von Fragen aus dem Gebiet der Immunitäts- und Entzündungslehre — eben Prozessen, bei denen die Leukocyten eine große Rolle spielen — zu erklären, worauf ich schon in mehreren früheren Arbeiten hingewiesen habe.

An diesen aleukocytären Tieren versuchte ich nun, die verschiedenen Typen unserer parasitoziden Mittel auf ihre Abhängigkeit von dem Vorhandensein der Freßzellen zu untersuchen.

Als Vertreter der verschiedenen parasitoziden Typen wählte ich:

als bakteriotropes Serum: das Pneumokokkenserum,
als bakteriolytisches Serum: ein Cholerakaninchenimmunserum,
als Chemotherapeutikum für Protozoen: das Salvarsan in seiner Wirkung auf Nagana,
als Chemotherapeutikum für Bakterien: das Aethylhydrokuprein in seiner Wirkung auf Pneumokokken.

Die aleukocytären Tiere leben nach ihrem völligen Freiwerden von Leukocyten nur etwa 24—48—72 Stunden. Unter diesen Umständen mußte die Versuchsanordnung in jedem Falle so gewählt werden, daß binnen 24 Stunden die Entscheidung über die Wirksamkeit des Mittels herbeigeführt werden mußte.

I. Bakteriotrope Sera.

Das Pneumokokkenserum (ich benutzte eine Probe des Neufeld-Händelschen Serums, das mir vom Sächsischen Serumwerk freundlichst überlassen wurde) stellt nach unseren bisherigen Anschauungen ein bakteriotropes Serum dar, das also nur beim Vorhandensein von Leukocyten zu wirken vermag.

Der Versuch geschah hier in der Weise, daß das Serum den Uebertritt von intraperitoneal applizierten hochvirulenten Pneumokokken in die Blutbahn verhindern sollte.

Die Versuchstiere waren Mäuse. Viele Voruntersuchungen hatten ergeben, daß Mäuse, die die enorm hohe Dosis von 200 000 Mache-Einheiten pro 20 g Körpergewicht verhältnismäßig gut vertragen, 60—72 Stunden nach intravenöser Applikation dieser Dosis stets leukocytenfrei waren. Wir verzichteten hier bei der einzelnen Maus auf die Zählung. Die Mäuse waren alle etwa 20 g schwer.

Sehr großen Wert muß man auf die Wahl der Mäuse legen. In den ersten Versuchen bekam ich paradoxe Resultate: Kontrollmäuse, die das Hundertfache der gewöhnlichen Dosis letalis erhalten hatten, blieben gesund. Schließlich stellte sich heraus, daß es Mäuse gibt, die, wie es schon Morgenroth beschrieben hat, immun gegen Pneumokokken sind. Diese Mäuse sind nun aber an einer deutlichen gelblichen Färbung, die von einem richtigen Zitronengelb bis zu einer leichten gelblichen Tönung schwankt, schon vor dem Versuch, wenn man darauf achtet, kenntlich. Die Mäuse sind jetzt schon ziemlich verbreitet, so daß ich sie hier aus drei verschiedenen Berliner und einer auswärtigen Quelle bekam. Dabei kann ich völlig Morgenroths Angabe bestätigen, daß es sich um eine absolute Immunität handelt, da die Tiere 0,5 ccm einer hochvirulenten Pneumokokkenserumbouillon anstandslos vertrugen.

Als Testobjekt verwandte ich den Stamm Neufeld I, einen typischen Pneumococcus, der durch abwechselnde Maus- und Serumbouillonpassage hochvirulent für Mäuse gezüchtet war. Die Titration ergab, daß $^1/_{10}$ ccm der Verdünnung 1 : 500 000 der Pneumokokkenbouillon die etwa 20 g schweren Mäuse binnen zweimal 24 Stunden an Pneumokokkensepsis nach intraperitonealer Einverleibung tötete.

Ein Vorversuch mußte zeigen, binnen welcher Zeit die Pneumokokken bei intraperitonealer Gabe ins Blut übertreten. Der Nachweis geschah in der Weise, daß die Schwanzspitze nach Jodierung mit steriler Schere gekürzt wurde und von dem hervortretenden Blutstropfen Ausstrichpräparate

8*

nach Färbung mit dünnem Karbolfuchsin untersucht und ein Tropfen in Serumbouillon und auf Hämoglobinagar ausgesät wurde.

Tabelle I.

Bezeichnung	Gewicht g	11h10	1h40 – 2½ Std.			3h10 – 4 Std.			7h10 – 8 Std.			11h10 – 24 St.			
		Pneumokokkenbouillon ip.	Ausstrichpräparat	Hämoglobinagarplatte	Serumbouillon	A	H	S	A	H	S	A	H	S	
Nacken	21	0,005	0	0	∞	0	3 Kol.	∞	+	c. 25 K.	∞	∞	∞	∞	tot
Hals	19	0,005	0	0	0	0	0	0	+	c. 15 „	∞	++	∞	∞	
Hinten	19	0,005	0	0	0	0	12 Kol.	∞	0	c. 30 „	∞	∞	∞	∞	tot
Rücken	21	0,001	0	0	0	0	0	∞	0	0	∞	∞	∞	∞	sterbd.
Brust	18	0,001	0	0	0	0	5 Kol.	∞	0	11 Kol.	∞	+	∞	∞	
Rechts	22	0,001	0	0	0	+	15 „	∞	+	c. 30 K.	∞	+	∞	∞	

A = mikroskopisches Ausstrichpräparat, H = Hämoglobinagarplatte, S = Serumbouillon.

Danach treten die Pneumokokken also bei der im Versuch angewandten Dosis (und auch schon bei dem fünften Teil dieser Dosis) binnen 4 Stunden stets ins Blut über.

Ein weiterer Versuch überzeugte davon, daß dieses Uebertreten in gleicher Weise auch bei aleukocytären Tieren stattfand. Man mußte mit Rücksicht auf den weiter unten zitierten Schweinerotlaufversuch mit der Möglichkeit rechnen, daß durch den Leukocytenzerfall Immunstoffe frei wurden, die den Pneumokokken den Uebertritt ins Blut verwehren könnten. Aber auch bei diesen Tieren waren bei Applikation von 0,00005 ccm Pneumokokkenbouillon ins Peritoneum 6 Stunden später (hier wurde nur die eine Stichprobe vorgenommen) bei allen 6 Mäusen die Pneumokokken im Blute nachzuweisen.

Ein weiterer Versuch, der wie alle vorher zitierten im Hauptversuch als Kontrolle mit wiederholt wurde, zeigte, daß bei einem normalen, also leukocytenhaltigen Tiere das intravenös gegebene Heilserum die Pneumokokkämie sicher verhinderte.

So ergab sich folgender Hauptversuch:

Tabelle II.

No.	Bezeichnung	Gewicht	Intravenös Thorium in Mache-Einheiten		Intraperitoneal Pneumokokken-Serumbouillon	Intravenös Serum	Nach 4 Stunden			Nach 8 Stunden			Nach 24 Stunden			Tod nach Tagen	Resultat
							A	H	SB	A	H	SB	A	H	SB		
1	Unbezeichnet	19	200 000	60 Stunden später	1 : 100 1/10 0,001	0,2	0	0	0	+	12	∞	+	∞	∞	2	Bei leukocytenfreien Tieren treten die Pneumokokken trotz Serums ins strömende Blut binnen 8 Std. über
2	Hals	21	200 000		0,001	0,2	0	2	∞	+	∞	∞	+	∞	∞	1	
3	Nacken	20	200 000		0,001	0,2	0	0	∞	0	2	∞	+	∞	∞	1	
4	Kopf unten	18	200 000		0,001	0,2	+	3	∞	+	16	∞	+	∞	∞	1	
5	Rücken R.	19	200 000		1 : 100 5/10 0,005	0,2	+	5	∞	+	∞	∞	+	∞	∞	1	
6	„ L.	20	200 000		0,005	0,2	0	0	0	0	10	∞	+	∞	∞	1	
7	„ V.	20	200 000		0,005	0,2	0	0	∞	0	2	∞	+	∞	∞	2	
8	„ H.	21	200 000		0,005	0,2	+	∞	∞	+	∞	∞	+	∞	∞	1	
9	R.V.	20	.		0,005	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	lebt	Bei normalen Tieren vermag das Serum den Uebertritt zu verhüten
10	R.H.	18	.		0,005	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	„	
11	L.V.	18	.		0,005	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	„	
12	L.H.	17	.		0,005	0,02	0	0	0	0	0	0	0	0	0	„	
13	B.V.	22	200 000		0,001	.	+	∞	∞	+	∞	∞	+	∞	∞	1	Thorum X allein ohne Heilserum hat keinen Einfluß
14	B.H.	20	200 000		0,001	.	+	10	∞	+	∞	∞	+	∞	∞	1	
15	R.V. + R.H.	20	.		0,005	.	0	ca 12	∞	0	3	∞	+	∞	∞	2	Die Pneumokokken treten bei Normaltieren ohne jede Behandlung binnen 4—8 Std. ins Blut von der Peritonealhöhle über
16	R.V. + L.H.	21	.		1 : 1000 5/10 0,0005	.	0	3	∞	0	0	∞	+	∞	∞	2	
17	L.V. + R.H.	20	.		0,0005	.	0	∞	∞	+	∞	∞	+	∞	∞	2?	
18	L.V. + L.H.	22	.		1 : 10 000 0,00005	.	0	0	0	0	0	∞	0	∞	∞	2	
19	Brust	19	.		0,00005	.	0	0	0	0	4	∞	+	∞	∞	2	

Es war also bei den Tieren, die Leukocyten besaßen, nie möglich, im Blute kreisende Pneumokokken nachzuweisen, wenn die Tiere nach intraperitonealer Pneumokokkeninokulation intravenös das Neufeldsche Serum erhalten hatten. Bei den leukocytenfreien Tieren hingegen treten die Pneumokokken trotz des Heilserums über und sind hier spätestens nach 8 Stunden nachweisbar.

Das Pneumokokkenserum vermag also nur bei Gegenwart von Leukocyten bei Mäusen die Pneumokokkensepsis zu verhüten.

II. Bakteriolytische Sera.

Als Prototyp wählte ich hier ein Kaninchen-Choleraimmunserum (Titer 1 : 5000) des Kgl. Institutes für Infektionskrankheiten.

Zur Prüfung verwandte ich hier den Pfeifferschen Versuch.

Versuchstiere waren Meerschweinchen von ca. 200 g Gewicht, die etwa 400 000 Mache-Einheiten intracardial (nach Morgenroths Technik) injiziert erhalten hatten. 72—96 Stunden später wurden sie zum Versuch benutzt, nachdem zwei Kammerzählungen im Abstand von 3 Stunden völliges Fehlen der Leukocyten im strömenden Blut ergeben hatten.

Als Testobjekt diente der Cholerastamm 74 des Institutes, der sich durch große Beweglichkeit der Vibrionen auszeichnete.

Von Wichtigkeit war natürlich der Nachweis, daß die Tiere trotz des Mangels der Leukocyten das zur Komplettierung des Immunserums erforderliche Komplement noch besaßen. Ich hatte schon in einer früheren Arbeit gemeinsam mit Plesch nachgewiesen, daß Meerschweinchen, denen durch das Thorium X Knochenmark und Leukocyten zerstört war, ihr Komplement unverändert behielten.

Der Pfeiffersche Versuch wurde in der üblichen Weise mit 3 leukocytenfrei gemachten Meerschweinchen angestellt, die die Vibrionen in Bouillon, in einer Serumverdünnung von 1 : 200 und einer von 1 : 5000 in die Bauchhöhle erhielten.

Zum Vergleich erhielten Normalmeerschweinchen von derselben Verdünnung, die für die analogen Tiere im selben Reagenzglase hergestellt war, ebenfalls 1 ccm intraperitoneal.

Ueber den Erfolg des Versuches gibt das folgende Protokoll Auskunft.

Tabelle III. Pfeifferscher Versuch.

	Sofort		Nach 20 Minuten		Nach 40 Minuten	
	aleukocytär 185	normal 452	aleukocytär 185	normal 452	aleukocytär 185	normal 452
	Serum 1 : 200					
Vibrionen	+++	+++	+	++	0	0
Beweglichkeit	+	+	0	0	0	0
Granulabildung	0	0	++++	++++	++++	++++
	Serum 1 : 5000					
	187	451	187	451	187	451
Vibrionen	++++	++++	+	++	0	0
Beweglichkeit	++	+++	0	0	0	0
Granulabildung	0	0	++++	++++	++++	++++
	Kontrolle					
	186	453	186	453	186	453
Vibrionen	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Beweglichkeit	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Granulabildung	0	0	0	0	0	0

Stamm 74. Serum 588 (Titer 1 : 5000).

Man sieht aus dieser Tabelle, daß die Bakteriolyse bei den aleukocytären Tieren gleich prompt verläuft wie bei den Normaltieren. Ja bei den aleukocytären Tieren ist die Auflösung der Vibrionen sogar weiter fortgeschritten als bei den Normaltieren (Serumverdünnung 1 : 200 und 1 : 5000 nach 20 Minuten) und auch die Beweglichkeit eher geschädigt als bei den Normaltieren (1 : 5000 sofort nach Injektion).

Wie ist diese paradoxe Erscheinung nun zu erklären?

Eine direkte Wirkung der radioaktiven Substanz auf die Vibrionen ist nicht anzunehmen. Thorium X zeigt im hängenden Tropfen den Vibrionen gegenüber keinen anderen Einfluß

als die zur Kontrolle verwandte Kochsalzlösung. Vielleicht werden aber durch den Leukocytenzerfall Stoffe frei, die ihrerseits antibakteriell wirken.

Für die Richtigkeit dieser Anschauungen scheint der weiter hinten zitierte Versuch über natürliche Schweinerotlaufimmunität zu sprechen.

Unser Hauptversuch zeigt jedenfalls, daß für die Wirkung der bakteriolytischen Sera die Leukocyten **nicht** von prinzipieller Bedeutung sind.

III. Chemotherapie bei Protozoen (Salvarsan).

Im Tierexperiment erschien mir eine sichere Prüfung des Mechanismus der Heilwirkung des Salvarsans nur gegenüber Trypanosomen möglich. Wohl ist von klinischer und experimentell-pathologischer Seite über spezifische Heilung von Milzbrand und Rotlauf durch Salvarsan berichtet worden. Man mußte jedoch beim Rotlauf mit der Salvarsandosis so weit hinaufgehen, daß ein nicht unbeträchtlicher Prozentsatz der Tiere der Salvarsanvergiftung erlag. Auch trat beim Milzbrand die Heilung durch Salvarsan nicht mit der Sicherheit auf, daß man aus ihrem Ausbleiben bindende Schlüsse ziehen konnte.

Ich arbeitete infolgedessen an Mäusen, die mit einem Naganastamm, den ich der Liebenswürdigkeit des Herrn Prof. Morgenroth verdanke, infiziert wurden.

Meine Versuchsanordnung war die folgende:

Die Mäuse wurden mit 200000 Mache-Einheiten intravenös gespritzt. Am nächsten Tage bekamen sie 0,2 einer 50-fachen Blutverdünnung, von der das Originalblut in einem dünnen frischen Präparat etwa 20 Trypanosomen pro Gesichtsfeld (Zeiß DD 2) enthielt, in das Peritoneum gespritzt. Weitere 48 Stunden später ergab dann die Untersuchung des Blutes, daß alle Leukocyten aus dem Blute eliminiert waren, sowie daß im Gesichtsfeld etwa 30 Trypanosomen vorhanden waren. Die Tiere erhielten nun eine intravenöse Injektion von Altsalvarsan 1 : 1000. 24 Stunden später wurde dann bei diesen Mäusen wie bei den Kontrollen das Blut sowohl im Ausstrich wie durch Injektion an neue Mäuse untersucht.

Ich kann mir hier die Anführung eines Protokolles sparen. Nur will ich ausdrücklich bemerken, daß Kontrollen in vivo wie in vitro ergaben, daß Thorium X allein keine schädigende Wirkung auf die Parasiten hatte, sowie daß andere Kontrollen zeigten, daß die Trypanosomen spontan nicht verschwinden.

Mit absoluter Regelmäßigkeit waren 24 Stunden nach der Injektion des Salvarsans alle Trypanosomen aus dem Tierkörper verschwunden.

Salvarsan erwies sich also bei dieser Prüfung als echtes Chemotherapeutikum mit exquisiter Parasitotropie, das keiner Beihilfe durch die Leukocyten bedurfte.

IV. Chemotherapie bei Bakterien

(Aethylhydrokuprein gegen Pneumokokken).

Die Versuchsanordnung, um die Wirkung des Aethylhydrocupreins auf Pneumokokken am aleukocytären Tiere zu prüfen, war die analoge, wie für das Pneumokokkenserum.

Die Mäuse bekamen 24 Stunden nach der Thorium X-Injektion gleichzeitig eine Subkutaninjektion von Pneumokokken und Aethylhydrokuprein. 10 und 24 Stunden später wurde das Blut auf Pneumokokkämie geprüft.

Der Versuch wurde auch in der Weise unternommen, daß die Mäuse ihre erste Aethylhydrokupreininjektion bereits 24 Stunden vor der Infektion bekamen und diese Dosis dann gleichzeitig mit der Injektion wiederholt wurde.

Die Dosis betrug auf 4 g Maus je 0,1 ccm der 2-proz. öligen Lösung. Diese Dosis curativa liegt nicht weit von der Dosis toxica, und zwar sind besonders kleine Mäuse (auch ohne Thoriumvorbehandlung) empfindlicher gegen das Mittel, als es der Relation zwischen Körpergewicht und Medikament entspricht. Es empfiehlt sich daher, möglichst große Mäuse, nicht unter 20 g, zu nehmen, wenn man nicht sehr große Verluste an der Toxizität des Mittels haben will.

Auch hier ergaben die Vorversuche, daß das Aethylhydrokuprein bei Normaltieren imstande ist, die Resorption der Pneumokokken von der Subcutis in die Blutbahn zu verhindern.

Tabelle IV.

No.	Bezeichnung	Gewicht	Pneumokokken 20. I. 14 4h p. m.	22. I. 14 10h a. m. subkutan Aethylhydrokuprein	23. I. 14 10h a. m. subkutan Aethylhydrokuprein	23. I. 14 10h a. m.	10 Stunden später A.	10 Stunden später H.	10 Stunden später S.B.	24 Stunden A.	24 Stunden H.	24 Stunden S.B.	Resultat
1	Kopf	24 g	200 000 M.E.	0,6	0,6	1 : 100 $^1/_{10}$ 0,001	+	6	∞	+	∞	∞	Bei leukocytenfreien Tieren ver-
2	Bauch	22 „	200 000 „	0,55	0,55	0,001	+	∞	∞	+	∞	∞	mag Aethylhydrokuprein den
3	Brust	23 „	200 000 „	0,575	0,575	0,001	+	∞	∞	+	∞	∞	Pneumokokkenübertritt ins Blut
4	Nase	21 „	200 000 „	0,525	0,525	0,001	+	∞	∞	+	∞	∞	nicht zu verhüten, auch nicht
5	Nacken	22 „	200 000 „	.	0,55	0,001	0	0	0	+	∞	∞	bei präventiver Gabe
6	Rücken	24 „	200 000 „	.	0,6	0,001	+	∞	∞	+	∞	∞	
7	Hinten	22 „	200 000 „	.	0,55	0,001	+	0	∞	+	∞	∞	
8	Schwanz	21 „	200 000 „	.	0,525	0,001	+	∞	∞	+	∞	∞	
9	R.S.	22 „	.	.	0,55	1 : 100 $^5/_{10}$ 0,005	0	0	0	0	0	0	Bei Normaltieren verhindert
10	L.S.	20 „	.	.	0,5	0,005	0	0	0	0	0	0	Aethylhydrokuprein die Re-
11	B.V.	20 „	.	.	0,5	$^1/_{10}$ 0,001	0	0	0	0	0	0	sorption der Pneumokokken von
12	B.H.	21 „	.	.	0,525	0,001	0	0	0	0	0	0	der Subcutis in die Blutbahn
13	R.V.	22 „	.	.	.	0,001	+	∞	∞	+	∞	∞	Ohne Behandlung treten die
14	R.H.	20 „	.	.	.	0,001	+	∞	∞	+	∞	∞	Pneumokokken von der Sub-
15	L.V.	22 „	.	.	.	0,0005	+	∞	∞	+	∞	∞	cutis binnen 10 Stunden über
16	L.H.	20 „	.	.	.	0,0005	0	0	∞	+	ca. 12	∞	
17	R.V. + L.H.	21 „	200 000 M.E.	.	.	0,0005	+	ca. 10	∞	+	∞	∞	Thorium X hat keinen Einfluß
18	L.V. + R.H.	22 „	200 000 „	.	.	0,0005	+	∞	∞	+	∞	∞	auf das Uebertreten von Pneumo-
													kokken ins Blut

Die übrigen Kontrollen, die, genau wie beim ersten Versuch (Tier 13—19 der Tabelle II), nur mit der Modifikation, daß die Infektion subkutan geschah, angestellt wurden, ergaben wieder auch in diesem Versuch, daß die Pneumokokken ohne jede Behandlung, sowie bei Thorium X-Applikation allein nach etwa 6 Stunden im Blute kreisend nachzuweisen waren.

Eine weitere Kontrollserie zeigte endlich, daß die Lebensdauer der Thorium X-Tiere durch das Aethylhydrokuprein nicht wesentlich verkürzt wurde.

Dieses Protokoll ergibt also, daß das Aethylhydrokuprein nicht mehr imstande ist, die Pneumokokkämie zu verhüten, sobald die Leukocyten dem Tiere fehlen.

Dieses Ergebnis, daß sich in den 4mal wiederholten Versuchen stets wieder ergab, entspricht nicht unseren Erwartungen.

Von Morgenroth und seinen Mitarbeitern, von Wright, sowie aus dem Neufeldschen Laboratorium sind Arbeiten erschienen, die die elektive bakterizide Kraft des Aethylhydrokupreins auf Pneumokokken dartun [1]).

Und diese elektive desinfektorische Wirkung des Mittels beweisen ja auch die vorzüglichen Erfolge der Ophthalmologen (Schur, Goldschmidt, Schwartzkopff) beim Ulcus serpens, wo man das Medikament direkt an den Krankheitsherd heranbringt.

Man hätte somit erwarten können, daß das Fehlen der Leukocyten und des Knochenmarkes völlig irrelevant für die Wirkung sein würde.

Am meisten mußte die Differenz in der Wirkung gegenüber dem Salvarsan auffallen. Es lag im Bereich der Möglichkeit, die Wirkung des Salvarsans durch den großen Ueberschuß des Heilmittels, den man in Anbetracht seiner relativen Ungiftigkeit im Vergleich zum Aethylhydrokuprein geben kann, zu erklären.

Ich wertete daher in einem besonderen Versuch noch die geringste sicher wirkende Dosis Salvarsan gegen Trypano-

1) Nach ad hoc angestellten Versuchen beeinflußt Thorium X in vitro diese elektive Desinfektion nicht.

somen aus. Da man jedoch nicht die Trypanosomeninfektion gleich stark gestalten kann, gelingt es fast nie, diese Dosis genau zu treffen. Aber sowohl bei den nicht ganz zureichenden, wie bei den zu großen Dosen Salvarsan zeigte sich nie ein markanter Unterschied in der Wirkung auf die Trypanosomen bei den Thorium- und den Normaltieren.

Ich glaube daher, daß hier ein prinzipieller Unterschied in der Wirkung des Salvarsans bei Trypanosomen und des Aethylhydrokupreins bei bakteriellen Infektionen vorliegt.

Wie ist nun diese paradoxe Wirkungsweise zu erklären?

Gegen die Annahme, daß die Aethylhydrokupreinwirkung bei Pneumokokken auf gesteigerter Phagocytose beruht, sprechen die Beobachtungen von Engwer und von Morgenroth über extracelluläre Auflösung von Pneumokokken bei den chemotherapeutisch behandelten Tieren, gegen die Annahme einer indirekten Wirkung durch lösliche „Leukine" meine Beobachtungen[1]) über den unspezifischen Schutz, den Thorium X sowohl gegen Pneumokokken- wie gegen Rotlaufinfektionen in gewissem Grade auszuüben vermag. Hiervon ist die echte spezifische Heilwirkung, die nur dem Aethylhydrokuprein (nicht dem Salvarsan) gegen Pneumokokken zukommt, die sich ihrerseits eben nur gegen Pneumokokken und nicht gegen Rotlauf richtet, ganz zweifellos zu trennen. Im selben Sinne sprechen ja auch deutlich die elektiven bakteriziden Wirkungen beider Mittel in vitro. Es ist also eine direkte parasitotrope Wirkung anzunehmen, die jedoch der Mitwirkung des Körpers bedarf. Ueber die Art und Weise dieser Mitwirkung können wohl erst weitere Versuche Aufklärung geben.

Vorläufig kann man unter vielen anderen an die folgenden, durch verwandte Erfahrungen gestützten Möglichkeiten denken.

Das Aethylhydrokuprein wirkt lokal unverändert als Desinficiens. Bei der Injektion geht es eine unwirksame Verbindung ein, aus der erst die Leukocyten etc. wieder eine wirksame Modifikation machen, ebenso wie es ja durch Ehr-

---

1) Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Ther., Bd. 16, 1914.

lich festgestellt ist, daß das Atoxyl, das das Arsenmolekül in fünfwertiger Form enthält, erst im Tierorganismus (auch durch Trypanosomen?) zu einer dreiwertigen Arsenverbindung (Paraaminophenylarsenoxyd reduziert werden muß, um trypanozid zu wirken.

Es wäre ferner möglich, daß das Aethylhydrokuprein eine große Menge Pneumokokken abtötet, daß dadurch ein Ictus immunisatorius ausgelöst wird, der den Rest der vorhandenen Pneumokokken durch Immunkörperbildung vernichtet. Diese Reaktion des Organismus muß natürlich bei den Thorium-Tieren fehlen. Dafür, daß überhaupt bei der Aethylhydrokupreinheilung der Pneumokokkenseptikämie Immunkörper auftreten, spricht der Umstand, daß Morgenroth und Levy derart geheilte Mäuse pneumokokkenimmun fanden, andererseits ist eine derartige Schnelligkeit der Immunkörperbildung, wie sie die obige Hypothese voraussetzen würde, sonst wohl nicht bekannt.

Es wäre endlich denkbar, daß das Aethylhydrokuprein der Leukocyten lediglich als Transportmittel bedarf. Für diese Deutung kann eine Beobachtung eines Vorganges sprechen, die Morgenroth und Ginsberg als „Transgression" bezeichnen.

Von einer Feststellung bei der Cornea-Anästhesie durch Aethylhydrokuprein ausgehend, machten sie folgenden Versuch: Sie setzten zu einer Aufschwemmung von gewaschenen Ziegenblutkörperchen die Aethylhydrokupreinlösung zu. Nach 20 Stunden wurde diese Mischung zentrifugiert und nun das Blutkörperchensediment und die Suspensionsflüssigkeit getrennt auf anästhesierende Wirkung untersucht. Und dabei stellte sich heraus, daß nicht die Flüssigkeit, sondern nur die morphologischen Zellelemente die Transporteure des Medikamentes waren. Es wäre also auch in meinem Versuch möglich, daß durch das Fehlen der Leukocyten das an sich wirksame Medikament nicht seinen Weg zu den Krankheitserregern machen konnte. Morgenroth zitiert als Beispiel für die Wichtigkeit der Zellelemente für den Transport gelöster Stoffe im Körper einen Versuch von Härtel, daß man eine Biersche Venenanästhesie nicht durch eine Kochsalz-

waschung der Venen, wohl aber durch eine Blutdurchströmung beseitigen kann.

Wir können uns auf Grund unserer Versuche weder für die eine noch für die andere Möglichkeit entscheiden. Aber gleichgültig, worauf diese Differenz der Wirkungsweise gegenüber dem Salvarsan, das, ein ideales Mittel, gegenüber den Protozoen noch gewissermaßen im „toten“ Tiere wirkt, beruht, werden wir doch daran festhalten müssen, daß das Aethylhydrokuprein einer Unterstützung durch den Organismus bedarf, sobald es nicht nur rein lokal als Desinficiens beim Ulcus serpens zu wirken hat.

Es sei darauf hingewiesen, daß bei der Pneumokokkeninfektion eine Kombination von Immunserum mit Aethylhydrokuprein gute Resultate zeitigt. Neufeld und Engwer berichten darüber bei der Meerschweinchenpneumonie, und Böhnke hat nachgewiesen, daß diese Kombination im Schutzversuch die Heilungsziffer von 33 Proz. auf 100 Proz. und im Heilversuch von 11 Proz. auf 83 Proz. gegenüber der reinen Chemotherapie steigert. Bärmanns Erfolge mit Kombinationsbehandlung bei Pneumoniekranken waren ebenfalls gute.

Für die praktische Anwendung des Mittels dürften aber die obigen Versuche ein Hinweis sein, der Kombinationsbehandlung mehr Interesse zuzuwenden.

Die Methodik, am aleukocytären Tiere zu arbeiten, dürfte jedenfalls die Möglichkeit bieten, tiefer in die Analyse der Wirkung der Chemotherapeutika einzudringen, da sie uns in den Stand setzt, zu erkennen, was Leukocyten und Knochenmark bei der Bekämpfung der Infektion leisten.

Zusammenfassung.

1) Intravenöse Applikation eines bakteriotropen Serums (Neufeldsches Pneumokokkenserum) vermag bei normalen Tieren das Uebertreten der Erreger (Pneumokokken) in die Blutbahn zu verhindern, bei durch Thorium aleukocytenfrei gemachten Tieren tritt binnen spätestens 8 Stunden die Bakteriämie auf. Das Pneumokokkenserum vermag also nur bei Gegenwart von Leukocyten die Pneumokokkensepsis zu verhindern.

2) Bakteriolytische Sera (Choleraserum) zeigen bei leukocytenfreien (aber komplementbesitzenden) Tieren dieselbe bakteriolytische Wirkung (Vibriolyse) im Pfeifferschen Versuch wie Normaltiere. Für die Bakteriolyse sind also die Leukocyten nicht von prinzipieller Bedeutung.

3) Protozoen (Naganatrypanosomen) werden durch ein Chemotherapeutikum (Salvarsan) ebenso restlos vernichtet wie beim Normaltiere.

4) Im Gegensatz dazu vermag das Aethylhydrokuprein (Optochin) im Thoriumtiere die Bakteriämie nicht zu verhüten. Aethylhydrokuprein bedarf also zur Wirkung der Mitarbeit des Organismus.

5) Morgenroths Angaben über das Vorhandensein einer pneumokokkenimmunen Mäuserasse, die sich durch gelbliche Hautfärbung auszeichnet, konnten bestätigt werden.

II. Beitrag zur Kenntnis der natürlichen Immunität (Resistenz) gegen Rotlauf.

Weil und seine Schüler haben Gründe für die Annahme beigebracht, daß die natürliche Resistenz des Meerschweinchens gegen Rotlauf auf löslichen, von den Leukocyten stammenden Stoffen beruht, die mit dem Komplement nicht identisch sind.

Nach der vorliegenden Literatur sollen Meerschweinchen gegen Schweinerotlauf absolut immun sein. Das trifft jedoch nicht unbedingt zu; wie bereits frühere Beobachtungen im Laboratorium gezeigt hatten, tötete der von mir benutzte Stamm, in großen Dosen intraperitoneal injiziert, Meerschweinchen.

Auch im folgenden Versuche zeigte sich dies.

4 normale, sowie 4 leukocytenfreie Meerschweinchen wurden mit $^1/_2$, 1, 1, 2 ccm Schweinerotlaufbouillon (Stamm Spät) intraperitoneal gespritzt. Die Normaltiere wurden nun am nächsten Morgen alle tot aufgefunden. Es fanden sich bei ihnen im Peritoneum wie im Blut massenhaft Schweine-

rotlaufstäbchen in Reinkultur. Die Thoriumtiere starben erst abends — mindestens 11 Stunden später — an ihrer Thoriumvergiftung. Bei 3 von diesen 4 Tieren war die Bauchhöhle steril, bei dem letzten, das 1 ccm Schweinerotlaufbouillon bekommen hatte, enthielt die Bauchhöhle reichlich Rotlaufbacillen. Die „Heilung" im bakteriologischen Sinne wird man auf die bakteriziden Stoffe der Leukocyten (Leukine) zurückführen müssen, und dies um so eher, als ja bekannt ist, wie wichtig gerade für die Abwehr der Rotlaufinfektion die Leukocytenstoffe sind (Weil).

Zusammenfassung.

Bei 3 von 4 mit Schweinerotlauf infizierten Meerschweinchen, denen durch Thorium X alle Leukocyten zur Auflösung gebracht waren, waren bakteriologisch keine Schweinerotlaufstäbchen mehr nachzuweisen, während alle 4 Normalmeerschweinchen (im Gegensatz zu der Literaturangabe, daß Meerschweinchen dagegen immun sind) an Schweinerotlaufbakteriämie starben.

Diese Heilung beruht auf dem Freiwerden bakterizider Stoffe (Leukine) aus den aufgelösten Leukocyten, ebenso wie die Choleravibriolyse beim Pfeifferschen Versuch durch die freiwerdenden Leukocytenstoffe beim Thoriumtiere beschleunigt wird.

[Aus der bakteriologischen Abteilung der Staatsmedizinischen Anstalt (Vorstand: Prof. Dr. Alfred Pettersson).]

Das Auftreten der Kinderlähmung unter der erwachsenen Bevölkerung in Stockholm und Göteborg in den Jahren 1911 und 1912.

Von Dr. med. **Carl A. Kling,**
Privatdozent.

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. September 1914.)

Das intensive Studium, das in den letzten Jahren von mehreren Seiten her der Kinderlähmung zugewandt worden ist, hat auch die Frage nach der Verbreitungsweise der Krankheit ihrer Lösung ein gutes Stück näher gebracht. Doch bleiben noch mehrere unerklärte, rätselhafte Punkte in dieser Beziehung bestehen. Die Eigentümlichkeit der Kinderlähmung, epidemisch vorzugsweise das platte Land heimzusuchen, manchmal in entlegenen Dörfern und Gehöften aufzutreten, während sie dagegen in den Städten oder an anderen dichtbevölkerten Orten sich nur in sporadischer Form oder in ganz kleinen Epidemien zeigt, stellt eine dieser bisher unbeantworteten Fragen dar.

Wickman ist der erste gewesen, der die Aufmerksamkeit auf dieses eigentümliche Verhalten gelenkt hat. Während der Epidemie von 1905 in Schweden fand er nur insgesamt 72 Fälle in den Städten gegen 959 in den übrigen Teilen des Landes. Zwei Städte, Växiö und Örebro, waren so gut wie ganz von der Seuche frei, trotzdem das umliegende Land schwer heimgesucht war. Denselben Charakter haben auch die letzten großen Epidemien in Schweden, die ihren Anfang im Jahre 1911 nahmen, gezeigt. Während 1911 und 1912 kamen zwar nicht gerade unbedeutende Anhäufungen von Kinderlähmungsfällen in Stockholm und Göteborg sowie in einigen anderen der Städte des Landes vor, die Morbidität war aber verhältnismäßig bedeutend größer auf dem Lande als in den Städten. Nach Wernstedts Berechnung trafen während 1911 in den befallenen Landgemeinden 16, in den Städten dagegen nur 6 Paresefälle auf 10000 Einwohner ein.

Die eben angeführten Verhältnisse sind als Argumente gegen die Theorie einer Verbreitung der Krankheit durch Berührung verwendet worden. Wird wirklich der Ansteckungsstoff von Person auf Person übertragen, so sollte man, meint

man, erwarten, daß in den Städten und an Orten mit großen Menschenansammlungen bei dem dort herrschenden lebhaften Verkehr und den reichen Kontaktmöglichkeiten die Kinderlähmung stärkere Verbreitung aufwiese als auf dem spärlich bevölkerten platten Lande. Das ist aber, wie aus dem Gesagten hervorgeht, nicht der Fall. Die experimentelle Forschung der letzten Jahre hat jedoch sehr kräftige Stützen für die Kontakthypothese geliefert. Wir wissen nunmehr, daß das Kinderlähmungsvirus sich in dem Nasen- und Rachensekret sowie in dem Darminhalt nicht nur der erkrankten Personen, sondern auch bei völlig gesunden Individuen, die sich in der Umgebung der Kranken aufhalten, findet (Kling, Pettersson und Wernstedt, Kling und Levaditi, Flexner, Clark und Fraser, Lucas und Osgood, Kling und Pettersson). Andererseits haben Kling und Levaditi konstatiert, daß Individuen, die an einem Epidemieherde leben, ohne sichtlich angesteckt worden zu sein, spezifische Immunkörper im Blute beherbergen können. Diese Tatsachen zeigen teils, daß die Kinderlähmung aller Wahrscheinlichkeit nach sich von Person zu Person unter Vermittlung virushaltiger Sekrete und Exkrete verbreitet, teils daß die Mikrobe verbreiteter ist, als es die Anzahl der typischen und abortiven Fälle angibt. Es ist klar, daß in den Städten und an den dichtbevölkerten Orten, wo nur sporadische Fälle oder kleinere Epidemien vorkommen, die Verbreitung des Ansteckungsstoffes auf dieselbe Weise stattfindet wie innerhalb der großen Epidemieherde auf dem Lande.

Wie soll man nun die relativ unbedeutende Morbidität in den Städten und ihnen entsprechenden Gemeinwesen erklären? Kling, Pettersson und Wernstedt haben die Hypothese aufgestellt, daß die Kinderlähmung eine gewöhnliche Kinderkrankheit ist, daß die Mikrobe meistens nur leichte krankhafte Störungen, wie wir sie bei den sogenannten Abortivfällen sehen, verursacht, daß sie aber während gewisser Zeiten eine höhere Virulenz annimmt, in derselben Weise wie andere pathogene Mikroorganismen. Bei diesen Gelegenheiten tritt ihre Affinität zum Nervensystem besonders stark hervor, und wir können dann Anhäufungen von typischen Kinderlähmungsfällen konstatieren. In größeren Städten und dichtbevölkerten Gegenden, wo die Individuen leicht miteinander in Berührung

kommen, verbreitet sich das Kinderlähmungsvirus in seiner bescheidenen Form unter dem größeren Teil der Bevölkerung, gleichwie das der Fall bei den Krankheitserzeugern der gewöhnlichen Kinderkrankheiten (z. B. Masern, Scharlach) ist. Dadurch wird eine Immunität bewirkt, die sich in Zeiten nützlich erweist, wo die Mikrobe einen bösartigen Charakter angenommen hat. Die Städte bleiben dann im großen und ganzen verschont, während das platte Land, wo das Virus nicht dieselbe Gelegenheit gehabt hat, sich zu verbreiten und Immunität hervorzurufen, schwerer heimgesucht wird. Daß die Hauptmasse von Kinderlähmungsfällen innerhalb eines Epidemieherdes aus Abortivformen bestehen kann, haben mehrere Untersuchungen gezeigt. So fanden Kling und Levaditi beim Auftreten der Krankheit im Jahre 1912 auf der kleinen Insel Djursö in der Schärenflur von Oestergötland 14 von den 49 Personen der Insel erkrankt, und nicht weniger als 71,4 Proz. der Fälle verliefen abortiv. Eine ähnliche Beobachtung ist auch von Wernstedt während der Epidemie in Halland 1912 gemacht worden.

Ich habe versucht, weitere Bestätigungen dieser Hypothese zu erhalten. Ist es richtig, wie wir angenommen haben, daß die Kinderlähmung in ihrer leichten Form in den Städten einheimisch ist, so müßte man nachweisen können, daß die wirkliche Stadtbevölkerung, d. h. diejenige, die in der Stadt geboren und aufgewachsen ist, eine größere Widerstandskraft gegen die Krankheit besitzt als die, welche nach der Kindheitszeit vom Lande her, wo die Poliomyelitis nicht epidemisch aufgetreten, zugezogen ist. Vor 1911 war der größere Teil des platten Landes in Schweden von der Kinderlähmung noch unberührt. Während der Jahre 1911 und 1912 trat eine verhältnismäßig große Anzahl Kinderlähmungsfälle unter der erwachsenen Bevölkerung in Stockholm und Göteborg ein. Ein näheres Studium dieser Fälle schien mir geeignet, die angeführte Frage näher zu beleuchten. Ich habe mir dabei folgende zwei Hauptfragen zur Beantwortung gestellt: 1) Wie groß ist während dieser Jahre die Kinderlähmungsmorbidität unter dem in Stockholm und Göteborg geborenen und aufgewachsenen Teil der Bevölkerung und wie groß unter dem zugezogenen gewesen? 2) Wie hat sich der Verlauf der Krankheit innerhalb der beiden verschiedenen Kategorien gestaltet?

Tabelle I. Eingeborene

No.	Name	Alter	Beruf	Geburtsort	Kindheit	Aufenthalt in Stockholm bzw. Göteborg	Erkrankte an Kinderlähmung
1	Ingeborg N.	29 J.	Ehefrau	Stockholm	In Stockholm	Ihre ganze Zeit in Stockholm	8. VI. 1911
2	Jane Å.	26 J.	Tochter	Uppsala	In Uppsala, Hälsingborg, Stockholm	Vom 10.—20. Jahr und dann seit 1910 in Stockholm	3. I. 1911
3	Karin B.	23 J.	Tochter	Stockholm	In Stockholm	Ihre ganze Zeit in Stockholm	10. IX. 1911
4	Robert D.	21 J.	Arbeiter	Göteborg	In Göteborg	Seine ganze Zeit in Göteborg	27. VIII. 1912
5	Vera B.	20 J.	Schauspielerin	Stockholm	In Stockholm	Die letzten 14 Tage in Göteborg	26. V. 1912
6	Ragnar H.	20 J.	Arbeiter	Stockholm	In Stockholm	Seine ganze Zeit in Stockholm	29. X. 1911
7	Fredrik B.	20 J.	Student	Stockholm	In Stockholm	Seine ganze Zeit in Stockholm	28. X. 1911
8	Erik E.	17 J.	Telegraphenbote	Eskilstuna	Die 2 ersten Jahre in Eskilstuna, dann in Stockholm	In Stockholm die ganze Zeit nach der Uebersiedelung	31. X. 1911
9	Elin M.	16 J.	Tochter	Stockholm	In Stockholm	Ihre ganze Zeit in Stockholm	12. VIII. 1911
10	Kurt N.	15 J.	Student	Västerås	Die 2 ersten Monate in Västerås, dann in Stockholm	Nach der Uebersiedelung die ganze Zeit in Stockholm	5. VIII. 1911
11	Jenny H.	41 J.	Kassiererin	Göteborg	In Göteborg	Ihre ganze Zeit in Göteborg	24. XI. 1912
12	Otto E.	33 J.	Geschäftsreisender	Stockholm	In Stockholm	In Stockholm außer während seiner Reisen	18. IX. 1911

Stadtbewohner.

Symptome	Zurückgebliebene Veränderungen	Typus der Krankheit
Fieber. Doppelseitige Augenmuskelparalyse. Facialisparese. Beide Arme paralytisch. Respirationslähmung. Tod am 11. VI. Im Rückenmark typische Veränderungen (Mikr.)	—	++
Fieber. Lähmung der beiden Beine. Aufsteigende Paralyse. Respirationslähmung. Tod am 8. I. Charakteristische Läsionen im Rückenmark (Mikr.).	—	++
Fieber. Beide Beine fast vollständig paralytisch. Patellarreflexe aufgehoben. Beide Triceps paretisch, besonders der rechte.	Febr. 1903: Das eine Bein noch vollständig gelähmt, kann mit Bandage gehen.	++
Kopfschmerzen, Fieber, Schüttelfrost. 8. IX.: Vollständige Paralyse der beiden Beine. Patellar- und Bauchreflexe verschwunden. Arme paretisch in den Schultergelenken. 9. IX.: Respirationslähmung. Tod.	—	++
Fieber, Kopfschmerzen, Verstopfung. 31. V.: Schling- und Sprechbeschwerden. Nackensteifigkeit. Linkes Bein paralytisch, rechtes paretisch. Patellar- und Bauchreflexe aufgehoben. Arme paretisch. Am Abend Respirationslähmung. Tod. Typische Veränderungen im Rückenmark (Mikr.).	—	++
Fieber, Kopfschmerzen, Schmerzen im Nacken. 31. X.: Paralyse beider Beine. Patellarreflexe aufgehoben. Nackensteifigkeit. Respirationslähmung. Tod. Typische Veränderungen im Rückenmark (Mikr.).	—	++
Kopfschmerzen, Erbrechen, Schüttelfrost. 1. XI.: Fieber, Nackensteifigkeit. Arme und Beine paralytisch. Patellarreflexe fehlen. Blasenparese. 2. XI.: Beginnende Respirationslähmung. Tod am 7. XI. Charakteristische Veränderungen im Rückenmark.	—	++
Fieber, Kopfschmerzen, Erbrechen. 4. XI.: Vollständige Paralyse des linken Armes, Parese des rechten. Beide Beine beträchtlich paretisch. Patellarreflexe schwach. Cremasterreflexe unbedeutend hervortretend. Bauch- und Tricepsreflexe fehlen. Später am Tage Respirationslähmung. Tod.	—	++
Kopfschmerzen, Verstopfung. 15. VIII.: Lähmung der Halsmuskeln. Vollständige Paralyse des linken Armes, partielle des rechten. Opisthotonus. Am Abend Respirationslähmung, Tod. Typische Veränderungen im Rückenmark (Mikr.).	—	++
Kopfschmerzen, Mattigkeit, Fieber. 8. VIII.: Paralyse der Bauchmuskeln. Unbedeutendes Bewegungsvermögen in den Beinen. Keine Patellarreflexe. 10. VIII.: Parese auch der Arme. 1. IX.: Das Bewegungsvermögen gewisser Muskelgruppen der Beine hat begonnen wiederzukehren. Pat. kann die Beine etwas im Hüftgelenk beugen, die Zehen bewegen, die Kniee strecken.	Febr. 1913: Kann gehen, aber mit großer Schwierigkeit. Treppen hinab muß er rückwärts gehen. Kann nicht ohne Hilfe der Hände sich im Bett aufrichten. Die Kraft in den Armen und Händen dagegen gut.	++
Steifigkeit und Empfindlichkeit im Nacken, aber keine Kopfschmerzen, kein Erbrechen. 4. VIII.: 38° C. Empfindlichkeit bei Palpation der Halsmuskeln der linken Seite. Die Schultermuskulatur des linken Armes paretisch. Reflexe normal.	März 1913: Die Parese im rechten Schultergelenk bedeutend vermindert. Kann nun den Arm emporheben, auch selbst sich kämmen. Besorgt ihre Arbeit wie vor der Krankheit.	+
Eine Woche lang fühlte Pat. sich matt und schlecht; Schmerzen in den Beinen und im Nacken. Erbrechen. 27. IX.: Rechtes Bein von normaler Kraft und Funktionsvermögen. Dagegen Schwäche im linken Bein, kann nicht den linken Fuß ordentlich aufheben. Triceps-, Bauch- und Patellarreflexe normal. 28. IX.: Eine gewisse Schwäche im rechten Deltoideus und rechten Triceps. 3. X.: Empfindlichkeit über dem N. ischiadicus und N. peroneus der linken Seite. 10. X.: Die Parese im linken Fußgelenk und rechten Schultergelenk bedeutend vermindert.	Febr. 1913: Die Schwäche im rechten Schultergelenk vollständig verschwunden, dagegen im linken Fußgelenk noch etwas hinkend; hinkt unbedeutend, wenn er geht.	+

No.	Name	Alter	Beruf	Geburtsort	Kindheit	Aufenthalt in Stockholm bzw. Göteborg	Erkrankte an Kinderlähmung
13	Ernst H.	24 J.	Arbeiter, bei der Erkrankung Rekrut beim Göta-Leibgarde-Regiment	Uppsala	In Uppsala	Siedelte 1908 von Uppsala nach Stockholm über	11. IX. 1912
14	Gustav S.	19 J.	Matrose	Stockholm	Die 3 ersten Jahre in Stockholm, vom 3.—7. Jahr in Ystad, dann wieder in Stockholm	Nach dem Aufenthalt in Ystad die ganze Zeit in Stockholm	10. IX. 1911
15	James L.	18 J.	Kontorist	Göteborg	In Göteborg	Seine ganze Zeit in Göteborg	9. VII. 1912
16	Axel Sv.	46 J.	Werkführer	Göteborg	In Göteborg	Seine ganze Zeit in Göteborg	6. VIII. 1912
17	Oskar E.	24 J.	Arbeiter	Väsby	Die 4 ersten Jahre in Väsby, dann in Stockholm	Nach der Uebersiedelung die ganze Zeit in Stockholm	25. IX. 1911
18	Eva F.	21 J.	Ehefrau	Stockholm	In Stockholm	Ihre ganze Zeit in Stockholm	19. X. 1911
19	Tor M.	21 J.	Student	Göteborg	In Göteborg	Seine ganze Zeit in Göteborg	16. VIII. 1912
20	Oskar N.	19 J.	Kontorist	Stockholm	In Stockholm	Seine ganze Zeit in Stockholm	13. XI. 1911

Symptome	Zurückgebliebene Veränderungen	Typus der Krankheit
Fieber, Kopfschmerzen, Schmerzen im Kreuz. 16. IX.: Etwas Nackensteifigkeit. Beweglichkeit des rechten Beines normal. Stützt sich nur mit Schwierigkeit auf das linke Bein. Beim Gehen schleppt die linke Fußspitze nach. Patellar-, Fußsohlen- und Cremasterreflexe aufgehoben. 2. X.: Normale Patellarreflexe auf der rechten Seite, die auf der linken Seite fehlen. 6. X.: Die Peroneusparese besteht unvermindert fort.	Febr. 1913: Hinkt unbedeutend. Die linke Fußspitze haftet etwas am Boden, wenn er geht. Linker Ober- und Unterschenkel von geringerem Umfang als der rechte.	+
Fieber, Schüttelfrost, Kopfschmerzen. 14. IX.: Phantasiert. Romberg positiv. Nystagmus. Lebhafte Patellarreflexe. 20. IX.: Die Beuge- und Streckmuskeln des rechten Knies schwächer als auf der linken Seite. Patellarreflex lebhaft auf der rechten, schwach auf der linken Seite. Schwäche im linken Biceps und Triceps. 22. IX.: Die Parese im rechten Bein hat zugenommen. Rechter Patellarreflex aufgehoben. Pat. bewegt nur unbedeutend den rechten Fuß. 8. X.: Pat. kann gehen, schleppt aber den rechten Fuß nach.	Gestorben im Dezember 1911 (Otitis med. + Sinusthrombose).	+
Kopfschmerzen, Schmerzen in den Knien, Nackensteifigkeit. 11. VII.: Pat. kann sich auf die Beine stützen, knickt aber leicht zusammen. 17. VII.: Leichte rechtsseitige Peroneusparese. Patellarreflex auf der rechten Seite verschwunden, auf der linken Seite normal. Gang unsicher. Stolpernd. 20. VII.: Pat. kann gehen, aber nur mit Schwierigkeit Treppen steigen.	März 1913: Noch eine gewisse Schlaffheit im rechten Fuß.	+
Fieberhitze, Schmerzen in Kopf, Nacken und Rücken. Verstopfung. 7. VIII.: Schlaff in den Beinen und Halsmuskeln. 16. VIII.: Rechtsseitige Facialisparese. Die Kraft vermindert in beiden Beinen, besonders im linken. Empfindlichkeit über beiden N. ischiadici. Patellarreflexe lebhaft. Bauch- und Cremasterreflexe lebhafter auf der rechten als auf der linken Seite.	März 1914: Keine Lähmung mehr vorhanden. Geht seiner Arbeit nach wie vor der Krankheit.	0
Uebelkeit, Diarrhöe, Schmerzen im rechten Bein. 26. IX.: 38° C. Stützt sich nur mit Schwierigkeit und unter heftigen Schmerzen auf das rechte Bein. Schmerzen auch bei passiven Bewegungen. Bedeutende Druckempfindlichkeit über den Nervenstämmen des rechten Beines. Patellarreflex am rechten Bein gesteigert, am linken normal. Plantarreflexe schwach auf beiden Seiten. 28. IX.: Die Schmerzen im rechten Bein haben aufgehört. Deutliche Schwäche des rechten Beines. 2. X.: Pat. geht nun unbehindert. 19. X.: Keine Lähmungen.	März 1913: Vollkommen wiederhergestellt.	0
Schwere im Kopf, Schläfrigkeit, Mattigkeit, Schüttelfrost, Schmerz in beiden Wangen, Zuckungen im rechten Augenlid und in den Lippen. 20. X.: Pat. kann nicht das rechte Auge schließen. 23. X.: Leichte Kopfschmerzen. Rechte Pupille weiter als die linke. Beträchtliche Parese des rechten oberen und unteren Facialis. Patellarreflexe normal. Nichts Bemerkenswertes von den Ohren her. 24. X.: Facialisparese vermindert. 4. XI.: Weitere Besserung.	Febr. 1913: Keine Lähmung der Gesichtsmuskeln mehr zu beobachten.	0
Fieberhitze, Kopfschmerzen, Mattigkeit, Verstopfung. 18. VIII.: 38,9°. 19. VIII.: 39°. Pat. kann sich nur schwer im Bett aufrichten. Rechter M. rectus bedeutend schlaffer als der linke. Es fällt Pat. schwer, den Kopf aufrecht zu halten. Zuckungen im linken Arm und Bein. Rechter Bauchreflex schwach. Patellarreflexe lebhaft. 22. VIII.: Linksseitige Abducenslähmung. 14. IX.: Die Parese in den Bauchmuskeln verschwunden.	März 1913: Das Bewegungsvermögen der Augen normal. Keine Schwäche der Bauchmuskeln.	0
Fieber, Kopfschmerzen, wiederholtes Erbrechen, Schmerzen, Ameisenkriechen in den Beinen. 17. XI.: Das rechte Bein dem Gefühl nach schwächer als das linke. 20. XI.: Die Stärke im rechten Bein herabgesetzt; Pat. hinkt. Das rechte Bein wird hyperextendiert gehalten. Plantar- und Patellarreflexe auf beiden Seiten lebhaft. Der Achillessehnenreflex fehlt auf der rechten Seite. Cremaster-, Bauch- und Tricepsreflexe normal. 26. XI.: Schmerzen in der rechten Glutealregion. Empfindlichkeit über dem rechten N. ischiadicus. 10. XII.: Die Bewegungen im rechten Knie- und Hüftgelenk normal, Pat. kann sich aber nicht auf den Zehen des rechten Fußes erheben.	Febr. 1913: Das Bewegungsvermögen des rechten Beines vollständig wiederhergestellt.	0

No.	Name	Alter	Beruf	Geburtsort	Kindheit	Aufenthalt in Stockholm bzw. Göteborg	Erkrankte an Kinderlähmung
21	Gerda A.	18 J.	Fabrikarbeiterin	Stockholm	In Stockholm	Ihre ganze Zeit in Stockholm	24. X. 1911
22	Frans Lj.	18 J.	Handlungsgehilfe	Stockholm	In Stockholm	Seine ganze Zeit in Stockholm	22. X. 1912
23	Margareta G.	17 J.	Tochter	Stockholm	In Stockholm	Ihre ganze Zeit in Stockholm	27. X. 1911
24	Anna Lj.	16 J.	Fabrikarbeiterin	Stockholm	In Stockholm	Ihre ganze Zeit in Stockholm	16. II. 1911

Tabelle II. Vom platten

No.	Name	Alter	Beruf	Geburtsort	Kindheit und Aufenthalt vor dem Zuzug	Ansässig in Stockholm bzw. Göteborg	Erkrankte an Kinderlähmung
25	Johann H.	58 J.	Maschinist	St. Olofs-Gemeinde, Län Stockholm	In Håtuna und Tibble, Län Stockholm	36 Jahre in Stockholm	27. XI. 1911
26	K. And.	41 J.	Bildhauer	Kirchspiel Vä, Län Kristianstad	In Vä. Vom 16. bis 24. Jahr in Stockholm, vom 25. bis 30. in Amerika	Die letzten 10 Jahre in Göteborg	30. I. 1912
27	Gustaf G.	35 J.	Arbeiter	Åtvidaberg, Kirchspiel Åtvid, Län Östergötland	In Åtvidaberg bis zum 20. Lebensjahr	15 Jahre in Stockholm	11. IX. 1911

Symptome	Zurückgebliebene Veränderungen	Typus der Krankheit
Schüttelfrost, Mattigkeit, Kopfschmerzen, Zuckungen in der linken Wange. 25. X.: 38° C. Die linke Pupille weiter als die rechte, beide reagieren auf Licht. Leichte Parese des rechten unteren Facialis. Plantarreflexe geschwächt, Patellar-, Achillessehnen-, Bauch- und Tricepsreflexe gesteigert. 18. XI.: Facialisparese verschwunden. Pupillen gleichgroß.	Febr. 1913: Keine Lähmung der Gesichtsmuskeln zu bemerken.	0
Angina. 27. X.: Linksseitige Pneumonie. 2. X.: Pat. kann sich nicht auf die Beine stützen. 4. XI.: Harnretention. 5. XI.: Es fällt Pat. schwer, sich im Bett aufzurichten. Kann nur mit Stützen auf den Beinen stehen. Die grobe Kraft beträchtlich sowohl in Armen als in Beinen herabgesetzt. Patellarreflexe fehlen. Fußsohlen- und Cremasterreflexe schwach. Sehnen- und Periostalreflexe an den Armen verschwunden. Verstopfung.	Febr. 1913: Nirgends mehr Lähmungen vorhanden. Besorgt seine Arbeit ohne Schwierigkeit. Wird jedoch leicht müde, wenn er eine Weile gegangen ist.	0
Heftige Schmerzen im Rücken. Fieber (bis hinauf zu 38,7°). 30. X.: Deutliche Nackensteifigkeit. Starke Empfindlichkeit über dem Rückgrat in der Dorsal- und Lumbalregion. Die grobe Kraft der Muskeln von Armen, Rumpf und Beinen nicht herabgesetzt. Gang normal. Plantarreflexe fehlen. Patellar- und Achillessehnenreflexe normal. Bauchreflexe herabgesetzt. Tricepsreflexe lebhaft. 3. XI.: Andauernde Nackensteifigkeit. Patellarreflexe lebhaft. Heftige Schmerzen im Rücken. 13. XI.: Pat. ist aufgestanden. Gang etwas unsicher. 17. XI.: Keine Paresen. Plantarreflexe fehlen. Sonstige Reflexe normal.	Febr. 1913: Vollkommen gesund.	0
Schüttelfrost, Schmerzen in Armen und Beinen. 18. II.—19. II.: Pat. kann weder Arme noch Beine bewegen. 20. II.—21. II.: Das Bewegungsvermögen ist teilweise zurückgekehrt. 22. II.: Empfindlichkeit über den Muskeln der Arme und Beine. Die Beine paretisch. Patellarreflexe fehlen. 2. III.: Pat. bewegt sich nun unbehindert. Patellarreflexe schwach. 11. III.: Linker Triceps schwächer als der rechte.	Febr. 1913: Gesund. Keine Lähmungen mehr vorhanden. Arbeitet wie früher.	0

Lande Zugezogene.

Symptome	Zurückgebliebene Veränderungen	Typus der Krankheit
Schüttelfrost, Schmerzen in Kopf, Nacken und Kreuz. 30. XI.: Pat. unfähig, sich auf das rechte Bein zu stützen. 2. XII.: 38° C. Paralyse des rechten Beines. Rechter Patellar- und Achillessehnenreflex aufgehoben. Cremaster- und Bauchreflexe auf beiden Seiten schwach. 4. XII.: Auch das linke Bein paretisch und der linke Patellarreflex verschwunden. Pat. richtet sich mit großer Schwierigkeit im Bett auf. 5. XII.—9. XII.: Blasenparese.	Febr. 1913: Andauernd Paralyse des rechten Beines.	++
Intensive Schmerzen in der Stirn und in den Weichen. Starker Schweiß. 2. II.: Pat. kann sich nicht auf die Beine stützen. Kann sich nicht im Bett aufrichten oder den Rumpf drehen. Respiration diaphragmatisch. Linkes Bein fast vollständig paralytisch. Patellarreflexe verschwunden. Schwäche in den Ellenbogen- und Schultergelenkbewegungen des linken Armes. 3. II.: Pat. kann nicht den Kopf vom Kissen erheben. Tod am selben Tage.	—	++
Kopfschmerzen, Erbrechen. 16. IX.: 39,5°. Pat. fällt es schwer, zu stehen, Empfindlichkeit im Nacken. Patellarreflexe gesteigert. Keine ausgesprochenen Paresen. 17. IX.: Ausgesprochene linksseitige Facialisparese. Ataktisch in seinen Bewegungen. Blasenparese. Erbrechen. 18. IX.: Bewußtlos. Respirationslähmung. Tod. Am 23. IX. erkrankte des Pat. 2-jährige Tochter an typischer Kinderlähmung mit schlaffer Paralyse beider Beine.	—	++

No.	Name	Alter	Beruf	Geburtsort	Kindheit und Aufenthalt vor dem Zuzug	Ansässig in Stockholm bzw. Göteborg	Erkrankte an Kinderlähmung
28	August O.	29 J.	Anstreicher	Auf dem Lande bei Umeå	In der Geburtsheimat; das Jahr vor der Uebersiedelung nach Stockholm in Hamburg	5 Jahre in Stockholm	8. VIII. 1911
29	Nanny A.	29 J.	Ehefrau	Lödöse, Kirchspiel St. Peter, Län Älvsborg	In Lödöse	11 Jahre in Göteborg	3. I. 1912
30	Klara H.	26 J.	Ehefrau	Gemeinde Bro, Värmland	In Bro	10 Jahre in Stockholm	11. VII. 1912
31	Johan M.	26 J.	Maschinist	Kirchspiel Börstil, Län Stockholm	In Börstil. Im Alter von 19 J. Anstellung bei der Marine in Stockholm. Vom 24.—26. Lebensjahr Arbeiter in Stockholm	1/2 Jahr in Göteborg	2. XI. 1911
32	Joel P.	25 J.	Eisenbahnarbeiter	Auf dem Lande in Småland	In der Heimat	1 Monat	25. VIII. 1911
33	Tora L.	23 J.	Näherin	Umgegend von Uppsala	In der Heimat	5 Jahre in Stockholm	18. XI. 1911
34	Axel P.	23 J.	Arbeiter	Billdal, Kirchspiel Askim, Län Göteborg	In Billdal	1 Jahr in Göteborg	17. X. 1911
35	Thure Öst.	23 J.	Feilenhauer	Gemeinde Oskar, Län Kalmar	In Oskar. Vom 17.—21. Lebensjahr bei der Marine in Karlskrona	2 Jahre in Göteborg	17. IX. 1911
36	Johan Ant.	23 J.	Straßenbahnarbeiter	Orust	Orust	6 Monate in Göteborg	29. X. 1912
37	W.	23 J.	Ehefrau	Franshammar, Län Gävleborg	Die 7 ersten Lebensjahre ausschließlich in Franshammar. Später Schule in Stockholm, die Sommermonate aber stets in der Heimat		

Symptome	Zurückgebliebene Veränderungen	Typus der Krankheit
Kopfschmerzen, Schüttelfrost, Erbrechen. 9. VIII.: Schwäche beider Arme und Beine. 10. VIII.: Harnretention. 12. VIII.: Beide Beine fast vollständig paralytisch. Nur Fußsohlenreflexe vorhanden. Beginnende Respirationslähmung. Am Abend Tod. Typische Veränderungen im Rückenmark.	—	++
Fieber, Schmerzen im Nacken und Rücken. Erbrechen. 6. I.: Beschwerden beim Sprechen. Ausgebreitete Lähmungen in beiden Armen und Beinen. Bauchmuskeln paralytisch. Keine Patellar- oder Bauchreflexe. Respirationslähmung. Tod.	—	++
Schmerzen in Rücken, Nacken und Beinen. 14. VII.: Lähmung beider Beine. 15. IX.: 39° C. Pat. kann sich nicht ohne Hilfe der Arme im Bett aufrichten. Patellar- und Bauchreflexe fehlen. Blasenparese. 14. VIII.: Kann nur die Zehen bewegen; im übrigen sind die Beine vollständig paralytisch.	Febr. 1913: Der Zustand der Pat. derselbe wie am 14. VIII. 1912.	++
Schmerzen im Rücken und Beinen. 3. XI.: Schwäche im rechten Bein; am Abend kann er sich nicht auf das Bein stützen. 4. XI.: Schwäche auch im linken Bein. 5. XI.: Beine vollständig paralytisch. Patellarreflexe verschwunden. Pat. kann nicht ohne Stütze sitzen. 2. VI. 1912: Rechtes Bein vollständig paralytisch. Auch das linke Bein paralytisch, die Zehen des linken Fußes jedoch etwas beweglich.	März 1913: Beide Beine fast vollständig paralytisch.	++
Kopfschmerzen, Schüttelfrost, Rückenschmerzen. Verstopfung. 27. VIII.: Schwäche in den Beinen. 28. VIII.: Nackensteifigkeit. Ausgebreitete Lähmungen in beiden Beinen. Patellar- und Bauchreflexe fehlen. 29. VIII.: Kann sich nicht im Bett aufrichten. Schwäche in beiden Triceps.	21. V. 1912: Andauernd Paresen in beiden Beinen. Kann mit Krücken gehen. Kraft in den Armen normal.	++
Schüttelfrost, Schmerzen in Kopf und Kreuz. 20. XI.: Rechtes Bein paralytisch, linkes paretisch. 21. I.: 38,6° C. Nackensteifigkeit. Patellar-, Achillessehnen- und Bauchreflexe verschwunden. Auch die Bauchmuskeln paralytisch. 7. I. 1912: Rechtes Bein andauernd hochgradig paralytisch, linkes Bein paretisch.	Febr. 1913: Wird in der Irrenanstalt Konradsberg wegen Psychose gepflegt. Andauernd Lähmung beider Beine.	++
Schmerzen in Rücken, Bauch und Beinen. Fieber. 25. XI.: 38° C. Beide Beine vollständig gelähmt. Beschwerden beim Sprechen. Respirationslähmung. Tod.	—	++
Schüttelfrost, Kopfschmerzen, Empfindlichkeit und Steifigkeit im Nacken, Erbrechen. 18. IX.: 39° C. Linker Arm fast vollständig paralytisch. Rechter Deltoideus gelähmt. 16. I. 1912: Pat. kann die Finger der linken Hand ziemlich gut bewegen; im übrigen ist der linke Arm vollständig gelähmt. Rechter Deltoideus andauernd paralytisch.	März 1913: Die Muskeln des linken Schulter- und Ellenbogengelenkes vollständig paralytisch. Rechter Deltoideus gleichfalls paralytisch. Das Bewegungsvermögen in den Händen und Fingern dagegen zurückgekehrt.	++
Kopfschmerzen, Schmerzen in den Beinen. 3. XI.: Schwäche in den Beinen. 4. XI.: Rechtes Bein paralytisch, nur die Zehen beweglich. Linkes Bein paretisch. Patellarreflexe verschwunden. 30. XII.: Beide Beine paralytisch, nur die Zehen können bewegt werden.	März 1913: Rechtes Bein andauernd fast vollständig paralytisch. Kann dagegen das linke Kniegelenk beugen und strecken; die Bewegungen jedoch schwach.	++
Fieber während einiger Tage. Beide Beine vollständig gelähmt; Patellarreflexe aufgehoben. Wurde zu Hause gepflegt.	Febr. 1913: Andauernd bedeutende Paresen in beiden Beinen; Pat. kann jedoch leidlich gehen. Senkrückig.	++

No.	Name	Alter	Beruf	Geburtsort	Kindheit und Aufenthalt vor dem Zuzug	Ansässig in Stockholm bzw. Göteborg	Erkrankte an Kinderlähmung
38	Fr. D.	19 J.	Rekrut	Gemeinde Slöta, Län Skaraborg	In Slöta	6 Monate in Stockholm	6. V. 1911
39	Josefina A.	17 J.	Dienstmädchen	Auf dem Lande bei Borås	In der Heimat	1 Woche in Stockholm	9. VII. 1911
40	Arvid S.	17 J.	Laufbursche	Kirchspiel Hammar, Län Örebro	In Hammar	3 Jahre in Stockholm	5. X. 1911
41	Nils A.	17 J.	Fleischereiarbeiter	Åkersberga, Län Stockholm	In Åkersberga	1 Jahr in Stockholm	14. XII. 1911
42	Sigrid R.	16 J.	Tochter	In Ryssby bei Kalmar	In der Heimat	5 Jahre in Stockholm	25. IX. 1911
43	Anna K.	16 J.	Tochter	Östervåla, Län Västmanland	In der Heimat	4 Jahre in Stockholm	26. IX. 1911
44	Erik O.	16 J.	Handlungsgehilfe	Inland, Kirchspiel Jörlanda, Län Göteborg	In der Heimat	9 Jahre in Göteborg	2. XI. 1912
45	Astrid L.	16 J.	Dienstmädchen	Göteborg	Kam im Alter von 6 Wochen als Ziehkind nach Kirchspiel Neklum, Län Göteborg	3 Monate in Göteborg	1. IX. 1912
46	Svea J.	16 J.	Dienstmädchen	Kirchspiel Hjärtum, Län Göteborg	In Hjärtum	1 Jahr in Göteborg	3. XI. 1912

Symptome	Zurückgebliebene Veränderungen	Typus der Krankheit
Schmerzen im Nacken, lahm im rechten Arm. 18. V.: 38,4° C. Pat. kann nicht den rechten Arm im Schultergelenk bewegen. Nur schwaches Bewegungsvermögen im rechten Ellenbogengelenk. Die grobe Kraft des rechten Beines herabgesetzt, Patellarreflex daselbst verschwunden. 20. V.: Beträchtliche Parese beider Beine. Unfähig zu stehen. Patellarreflex verschwunden am rechten, geschwächt am linken Bein. 9. VI.: Pat. kann nun gehen, jedoch nur mit Stütze. Kann nicht das rechte Ellenbogengelenk beugen, nicht den Oberarm abduzieren.	2. XII. 1911: Wegen seiner Lähmung aus dem Militärdienst entlassen.	++
Erbrechen, Schmerzen im Kopf und im rechten Arm. 10. VII.: Lähmung des rechten Armes. 11. VII.: 39° C. Kann nicht im rechten Schultergelenk abduzieren, nur mit Mühe das Ellenbogengelenk beugen. Kein Tricepsreflex am rechten Arm. Auch der linke Arm paretisch. 12. VII.: Das Bewegungsvermögen auch im linken Schultergelenk fast aufgehoben. 8. VIII.: Beide Deltoidei, der rechte Biceps sowie die rechten Unterarmmuskeln paralytisch.	Febr. 1913: Laut Angabe des Bruders andauernd in beiden Armen gelähmt, so daß sie dieselben nicht emporheben kann.	++
Schmerzen in Kopf und Rücken, Schweiße, Erbrechen. 9. X.: 39,6° C. Bedeutende Nackensteifigkeit. Kopf schlaff, fällt nach hinten über. Kann sich nicht im Bett aufrichten, die Bauchmuskeln werden nicht gespannt. Die beiden Arme und Beine beträchtlich paretisch. Plantar-, Patellar-, Achillessehnen-, Cremaster-, Bauch- und Tricepsreflexe fehlen. 10. X.: Respirationslähmung. Tod.	—	++
Schmerzen im Nacken und im Rücken, Erbrechen. 15. XII.: Schwäche in den Armen. 16. XII.: 38° C. Deutliche Nackensteifigkeit. Pat. kann nicht den Kopf vom Kissen erheben. Der linke Arm vollständig paralytisch, der rechte paretisch. Auch das rechte Bein hochgradig paretisch. Patellarreflexe fehlen am rechten Bein. 17. XII.: Respirationslähmung. 18. XII.: Tod.	—	++
Fieber, Kopfschmerzen, Erbrechen, Verstopfung. 27. IX.: Schwäche in den Beinen. 28. IX.: 38,4° C. Nackensteifigkeit. Kann sich nicht im Bett aufrichten. Bauchreflexe fehlen. Bedeutende Parese in beiden Beinen. Keine Patellarreflexe. 10. XI.: Die Beine andauernd fast vollständig paralytisch.	Febr. 1913: Kann gehen, obwohl mit großer Schwierigkeit.	++
Schmerzen in Armen und Beinen, Erbrechen, Verstopfung. Nach einigen Tagen wurden die Beine so schwach, daß Pat. nicht stehen konnte. Auch in den Armen trat Lähmung auf, so daß sie sich nicht selbst kämmen konnte. Pat. lag zu Hause bis zum 12. VII., wo sie ins provisorische Krankenhaus aufgenommen wurde. Schwäche in Armen und Beinen. Patellarreflexe fehlen. Tod am 24. VIII. 1911. Mikroskopische Untersuchung des Rückenmarks: Die Ganglienzellen degeneriert. Hier und da in der grauen Substanz leichte perivaskuläre Zellinfiltrationen. Im übrigen wurde bei der Sektion doppelseitige Bronchopneumonie angetroffen.	—	++
Schüttelfrost, Schmerzen in den Beinen, Nackensteifigkeit, Erbrechen. 6. XI.: Linkes Bein paralytisch, rechtes paretisch. Linker Patellarreflex fehlt, rechter schwach. Cremaster- und Bauchreflexe schwach. 30. XII.: Pat. kann nun gehen, obwohl mit großer Schwierigkeit; kann sich nicht ohne Hilfe der Hände im Bett aufrichten.	März 1913: Kann gehen, jedoch mit großer Schwierigkeit. Kann nicht das linke Bein emporheben. Kann sich nicht ohne Hilfe der Hände im Bett aufrichten.	++
Fieber, Kopfschmerzen, Schwäche im linken Arm. 2. IX.: Pat. kann stehen und gehen, sich auch im Bett aufrichten. Linker Arm fast vollständig gelähmt. Pat. kann nur die Finger bewegen, sowie pronieren und supinieren. 23. X.: Linker Arm paralytisch. Nur die Finger unbedeutend beweglich.	März 1913: Linker Arm andauernd paralytisch.	++
Fieber, Kopfschmerzen. 6. XI.: Schwäche in den Beinen. Verstopfung. 8. XI.: 39° C. Etwas steif im Nacken. Linkes Bein paralytisch, rechtes paretisch. Rechter Deltoideus gelähmt. 9. XI.: Auch linker Deltoideus gelähmt. 30. XII.: Pat. kann sich nicht auf die Beine stützen, nicht die Arme erheben.	März 1913: Beide Beine andauernd paralytisch. Kann nicht gehen. Paralyse des rechten Deltoideus sowie der rechten Ellenbogenbeuger.	++

No.	Name	Alter	Beruf	Geburtsort	Kindheit und Aufenthalt vor dem Zuzug	Ansässig in Stockholm bzw. Göteborg	Erkrankte an Kinderlähmung
47	Hilma H.	$15^1/_2$ J.	Dienstmädchen	Bengtfors, Län Älvsborg	In Bengtfors	6 Monate in Göteborg	24. X. 1912
48	Olga A.	15 J.	Dienstmädchen	Göteborg	$^1/_2$ Jahr alt kam sie zu ihren Großeltern nach Tromsö, Län Skaraborg	9 Monate in Göteborg	3. IX. 1912
49	Maria W.	30 J.	Ehefrau	Torsö, Län Skaraborg	In der Heimat	13 Jahre in Stockholm	22. IX. 1911
50	Hjalmar Lj.	27 J.	Hafenarbeiter	Värmdö, Län Stockholm	In der Heimat	11 Jahre in Stockholm	13. IX. 1911
51	Alida J.	22 J.	Fabrikarbeiterin	Kirchspiel Sättila, Län Älvsborg	In der Heimat	4 Jahre in Göteborg	6. VIII. 1912
52	Anna P.	21 J.	Dienstmädchen	Målsryd, Kirchspiel Toarp, Län Älvsborg	In der Heimat	1 Jahr in Göteborg	31. VIII. 1912
53	Alexis A.	20 J.	Buchhalter	Kirchspiel Stala, Län Göteborg	In der Heimat	4 Jahre in Stockholm	13. IV. 1912
54	Carl M.	20 J.	Militärvolontär	Gemeinde Åsaka, Län Skaraborg	In der Heimat	2 Jahre in Stockholm	6. IX. 1911
55	Lars N.	16 J.	Laufbursche	Västerhaninge, Län Stockholm	In der Heimat	1 Jahr in Stockholm	12. IX. 1911

Symptome	Zurückgebliebene Veränderungen	Typus der Krankheit
Schüttelfrost. 30. X.: 39° C. Nackensteifigkeit. Rechtes Bein paretisch, linkes fast paralytisch. Keine Patellarreflexe. Bauchmuskeln gelähmt; keine Bauchreflexe. 31. X.: Respirationslähmung. Tod.	—	++
Kopfschmerzen, Mattigkeit. 4. IX.: 39,8° C. Pat. kann nicht die Arme emporheben, sich nicht im Bette aufrichten, nicht stehen. Keine Patellarreflexe. Beide Beine fast vollständig paralytisch. 6. IX.: Beginnende Respirationslähmung. 12. IX.: Tod.	—	++
Kopfschmerzen, Schmerzen im Kreuz und in den Beinen. 23. IX.: Mattigkeit und Schwäche in beiden Beinen. 24. IX.: 38° C. Pat. kann sich nicht im Bett ohne Hilfe der Hände aufrichten. Kann nicht die Beine anziehen. Auch die Hüftgelenkstrecker schwach. Der rechte Patellarreflex schwach. Bauchreflex fehlt auf der linken Seite. 27. IX.: Heftige Schmerzen in beiden Beinen. 26. X.: Das Bewegungsvermögen in den Hüftgelenken andauernd hochgradig herabgesetzt, jedoch weniger als vorher. Empfindlichkeit über den großen Nervenstämmen an den Beinen.	Febr. 1913: Noch etwas paretisch in den Beinen. Kann im Zimmer gehen und auch Treppen steigen, obwohl mit Schwierigkeit.	+
Fiebergefühl, Schmerzen im Rücken. Nach einer Woche Schwäche im rechten Bein sowie in der linken Schulter. 6. X.: Der linke Oberarm kann nur unbedeutend abduziert werden. Pat. geht hinkend. Verminderte Kraft des rechten Beines. Patellarreflex auf der rechten Seite fehlt. Bauch- und Cremasterreflexe verschwunden. 25. X.: Linker Deltoideus audauernd paretisch. Unbedeutende Schwäche im rechten Bein.	Febr. 1913: Noch etwas schwach im rechten Bein. Arme normal.	+
Kopfschmerzen, Stiche in der Brust. 10. VIII.—11. VIII.: Pat. legt sich zu Bett, Schmerzen im Kreuz und im rechten Bein. 13. VIII.: Schwäche in beiden Beinen, Pat. kann aber doch gehen. 17. VIII.: Beide Quadriceps paretisch. Keine Patellarreflexe. 6. IX.: Pat. geht ziemlich unbehindert, kann sich jedoch nicht ohne Hilfe der Hände aus sitzender Stellung aufrichten.	März 1913: Kann sich nicht auf der linken Fußspitze erheben. Fühlt sich müde im Rücken.	+
Mattigkeit. Mund schief. 5. IX.: Rechtsseitige Facialisparese. Bauch- und Patellarreflexe normal. 20. IX.: Facialisparese vermindert, tritt aber noch deutlich hervor.	März 1913: Laut Angabe der Hausmutter andauernd schief im Gesicht.	+
Kopfschmerzen, Nackensteifigkeit. 15. IV.: Schmerzen in den Beinen, Schwierigkeit, das linke Bein emporzuheben, Schwäche im linken Arm. 17. IV.: 37,9° C. Linker Triceps paretisch. Ganz unsicher. Patellarreflexe fehlen. Der linke Fuß und die Zehen können nur unbedeutend bewegt werden. 15. V.: Die Parese im linken Arm vermindert. Die Kraft der Muskeln des Fußgelenkes größer; noch immer jedoch sehr geringes Bewegungsvermögen der Zehen.	März 1913: Schleppt beim Gehen die linke Fußspitze nach. Schwäche der linken Hand.	+
Fühlte sich matt in den Beinen. Schlechter Appetit. 9. IX.: Ataktisch. Rombergs Phänomen positiv. Die grobe Kraft im linken Bein herabgesetzt. Achillessehnenreflexe verschwunden, Patellarreflexe lebhaft. 15. IX.: Andauernd deutliche Schwäche im linken Bein. 21. IX.: Zustand wie am 15. IX.	Nahm am 31. X. 1912 seinen Abschied. Hatte wegen der Schwäche im Bein nicht bei der Truppe Dienst tun können.	+
Mattigkeit, Uebelkeit. 13. IX.: Zuckungen in der rechten Hälfte des Gesichtes. 16. IX.: 38,6° C. Deutliche Parese der beiden Aeste des rechten Facialis. Nystagmus. Patellarreflexe schwach. 21. IX.: Ameisenkriechen und Zuckungen in Armen und Beinen. 30. IX.: Schmerzen in beiden Beinen. 13. X.: Rechter Facialis andauernd hochgradig paretisch. Rechte Pupille weiter als die linke.	Febr. 1913: Die Facialisparese andauernd vorhanden.	+

No.	Name	Alter	Beruf	Geburtsort	Kindheit und Aufenthalt vor dem Zuzug	Ansässig in Stockholm bezw. Göteborg	Erkrankte an Kinderlähmung
56	Anna S.	25 J.	Dienstmädchen	Gemeinde Lekeryd, Län Jönköping	In der Heimat	1 Jahr in Stockholm	10. IX. 1911
57	Erik A.	19 J.	Eisenbahnarbeiter	Ösmo, Län Stockholm	In der Heimat	3 Monate in Stockholm	6. IX. 1911

Die Anzahl der untersuchten Fälle beträgt in beiden Städten zusammen 57. Die Mehrzahl derselben ist in den Epidemiekrankenhäusern zu Stockholm bzw. Göteborg gepflegt worden, die übrigen sind in andere Krankenhausanstalten aufgenommen worden. Dank dem Entgegenkommen der betreffenden Herren Krankenhausdirektoren ist es mir gelungen, detaillierte Angaben betreffs des Verlaufs der Krankheit in allen Fällen zu erhalten. Selbst habe ich Anfang 1913 die allermeisten der am Leben Gebliebenen untersucht, wobei ich zugleich Angaben über Geburtsort und Aufenthalt vor dem Krankheitsausbruch zu erhalten versucht habe.

In den Tabellen I und II finden wir die wichtigsten Angaben betreffs der Krankheitsfälle: Alter, Beruf, Geburtsort, Aufenthaltsort während der Kindheit, Aufenthaltsort vor dem Zuziehen, Datum der Erkrankung, die charakteristischsten Symptome, Sektionsresultate, zurückgebliebene Veränderungen. Schließlich ist der Uebersichtlichkeit wegen in der letzten Spalte jeder Fall besonders charakterisiert worden (+ + = Todesfall oder schwere zurückgebliebene Paralysen; + = leichte zurückgebliebene Paresen; 0 = vollständig vorübergegangene Lähmungen). In Tabelle I sind die eingeborenen Stadtbewohner zusammengestellt worden. Die allermeisten von ihnen waren eingeborene Stockholmer bzw. Göteborger (19 Personen). Von den 5 übrigen waren 4 in einer anderen der größeren Städte Schwedens geboren und hatten sich dort die ganze Kindheitszeit oder einen Teil derselben aufgehalten (Fälle No. 2, 3, 10 und 13). Oskar E. (Fall No. 17) ist, trotzdem er auf dem Lande geboren ist, gleichfalls der Gruppe der Stadtbewohner zugerechnet worden, da er bereits im Alter von 4 Jahren nach Stockholm kam. Tabelle II umfaßt die zugezogenen Landbewohner. Zwei von ihnen (Fälle No. 45 und 48) sind zwar in Göteborg geboren, sie kamen aber im Alter von 6 Wochen bzw. $^1/_2$ Jahr auf das Land und

Symptome	Zurückgebliebene Veränderungen	Typus der Krankheit
Schüttelfrost, Schmerzen in Kopf, Armen und Beinen, Schwindel, Erbrechen. 11. IX.: Schwäche in Armen und Beinen. Beschwerden beim Sprechen. 12. IX.: 39 ° C. Ataktisch. Rechte Hand paretisch. Lebhafte Patellarreflexe. Spricht lallend. 13. IX.: Schlingbeschwerden. 15. IX.: Zuckungen in Armen und Beinen. 16. IX.: Die Sprachstörung hat zugenommen. Sagt nur „ja" und „nein". Deutliche Schwäche im rechten Arm. 19. IX.: Die Sprache hat angefangen deutlicher zu werden. 23. IX.: Pat. spricht nun fast ganz normal. Die Schwäche im Arm verschwunden.	Febr. 1913: Vollständig wiederhergestellt.	0
Schüttelfrost, Schweiße, Erbrechen. 8. IX.: 39,5 ° C. Ataktisch. Beide Mm. abducentes paretisch. Nystagmus. 9. IX.: Etwas steif im Nacken. 10. IX.: Stumpf und schläfrig. 20. IX.: Nur der rechte Abducens paretisch.	Febr. 1913: Laut Angabe der Schwester keine Lähmung zurückgeblieben.	0

brachten dort ihre Kindheit zu, um dann wieder nach Göteborg zu ziehen. Sie gehören daher zunächst dieser Gruppe zu.

Eine große Anzahl der Zugezogenen hatte sich nur ganz kurze Zeit in der Stadt aufgehalten, als sie von der Krankheit befallen wurden. Nicht weniger als 15 von 33 hatten höchstens 1 Jahr in Stockholm bzw. Göteborg gewohnt, einer von ihnen war in der Stadt eine Woche, einige andere wenige Monate vor dem Krankheitsausbruch angekommen. 9 hatten seit 1—5 Jahren in der Stadt gewohnt, die übrigen 9 längere Zeit als 5 Jahre (siehe Tabelle III). 29 waren nach dem Ende der Kindheit (= die 14 ersten Lebensjahre) in die Stadt übergesiedelt, die übrigen 4 (Fälle No. 27, 42, 43 und 44) hatten bzw. 7, 7, 11 und 12 Jahre auf dem Lande zugebracht.

Tabelle III.

Anzahl	Aufenthalt in Stockholm bzw. Göteborg
15	1 Woche bis 1 Jahr
9	1—5 Jahre
9	mehr als 5 Jahre

Zur Beurteilung der vorliegenden Frage ist es natürlich notwendig, zu wissen, ob die Kinderlähmung jemals epidemisch an den Orten, wo die hier fraglichen Individuen aufgewachsen sind, aufgetreten ist, d. h. mit anderen Worten, ob sie während ihrer Kindheit Gelegenheit gehabt haben, mit dem

Kinderlähmungsvirus in Berührung zu kommen. Tabelle IV, aufgestellt im Anschluß an die genauen Angaben, die sich in Wickmans Bericht über die Epidemie von 1905 in Schweden finden, liefert uns Auskunft hierüber.

Tabelle IV.

No.[1]	Aufenthaltsort während der Kindheit	Kinderlähmungsepidemien vor 1911.	Bemerkungen
25	Håtuna und Tibble, Län Stockholm	1878, 1895, 1899 Epidemie in Stockholm, aber nicht sonst im Län	—
26	Kirchspiel Vä, Län Kristianstad	1905 einige Fälle im Län, nicht aber in Vä	Zog 1887 von Vä weg
27	Atvidaberg, Län Östergötland	1905 recht große Epidemie in Åtvidaberg und Umgegend	Zog 1896 weg
28	Umgegend von Umeå	0	—
29	Lödöse, Kirchspiel St. Peter, Län Älvsborg	1905 einige wenige Fälle um Borås herum, aber keine in Lödöse	Zog 1901 weg
30	Kirchspiel Bro, Län Karlstad	1905 zerstreute Fälle im Län	Zog 1902 weg
31	Kirchspiel Börstil, Län Stockholm	Siehe No. 25	—
32	Plattes Land in Småland	—	—
33	Umgegend von Uppsala	0	—
34	Billdal, Län Göteborg	1905 im Län 19 Fälle, aber keine in Billdal	—
35	Gemeinde Oskar, Län Kalmar	1905 vereinzelte Fälle im Län, aber keine in Oskar	
36	Orust	1905 2 Fälle	—
37	Franshammar, Län Gävleborg	0	—
38	Kirchspiel Slöta, Län Skaraborg	1905 ein größerer Herd im nördlichen Teil des Läns (Trästena), keine Fälle aber im Kirchspiel Slöta, das südlich von dem Herde liegt	—
39	Umgegend von Borås	1905 einige vereinzelte Fälle um Borås herum	—
40	Kirchspiel Hammar, Län Örebro	1905 ein kleiner Herd in dem nördlich von Hammar liegenden Städchen Askersund und Umgegend. Aus Hammar keine Fälle angegeben	—
41	Åkersberga, Län Stockholm	Siehe No. 25	—
42	Ryssby, Län Kalmar	Siehe No. 35; keine Fälle in Ryssby	—
43	Östervåla, Län Västmanland	1905 ein Herd im südlichen Teil des Läns (in und um Kungsör herum), keine Fälle in Östervåla, das nördlich von dem Herde liegt	—
44	Inland, Kirchspiel Jörlanda, Län Göteborg	Siehe No. 34; keine Fälle in Jörlanda	—
45	Kirchspiel Neklum, Län Göteborg	Siehe No. 34; keine Fälle in Neklum	—

1) Die Nummern entsprechen denen in Tabelle II.

No.	Aufenthaltsort während der Kindheit	Kinderlähmungsepidemien vor 1911	Bemerkungen
46	Kirchspiel Hjärtum, Län Göteborg	Siehe No. 34; keine Fälle in Hjärtum	—
47	Bengtfors, Län Älvsborg	Siehe No. 29	—
48	Torsö, Län Skaraborg	9 Fälle von Kinderlähmung auf Torsö 1905	—
49	Torsö, Län Skaraborg	Siehe No. 48	Zog 1898 weg
50	Värmdö, Län Stockholm	Siehe No. 25	—
51	Kirchspiel Sättila, Län Älvsborg	Siehe No. 29: keine Fälle in Sättila	—
52	Målsryd, Kirchspiel Toarp, Län Älvsborg	Siehe No. 29; keine Fälle in Målsryd	—
53	Kirchspiel Stala, Län Göteborg	Siehe No. 34; keine Fälle in Stala	—
54	Gemeinde Åsaka, Län Skaraborg	Siehe No. 38; keine Fälle in Åsaka	—
55	Västerhaninge, Län Stockholm	Siehe No. 25	—
56	Gemeinde Lekeryd, Län Jönköping	Epidemie im Län 1905. Keine Fälle in Lekeryd	—
57	Ösmo, Län Stockholm	Siehe No. 25.	—

Wie aus dieser Tabelle, sowie auch aus Tabelle II hervorgeht, verfügen wir über exakte Angaben über den Aufenthaltsort aller zugezogenen Individuen während der Kindheit mit einer einzigen Ausnahme (No. 32). Diese letztere Person hat nicht angetroffen werden können, und die Angaben betreffs seiner Heimat, die sich in der Tabelle finden, stammen von der Familie her, bei der er gewohnt hatte.

Um das Verständnis der Tabelle IV zu erleichtern, will ich daran erinnern, daß vor dem Jahre 1905 so gut wie das gesamte platte Land Schwedens von der Kinderlähmung in epidemischer Form noch unberührt war. Bergenholtz berichtete 1881 von einer kleinen Epidemie (18 Fälle) im nördlichen Teile des Landes, im übrigen aber war die Krankheit bis 1905 epidemisch nur in der Hauptstadt in den Jahren 1887, 1895 und 1899 sowie in Göteborg 1903 aufgetreten. Dann kam die große Epidemie des Jahres 1905, die über 1000 Fälle umfaßte. Diesmal war es hauptsächlich das platte Land, das von der Seuche heimgesucht wurde. Wickman beschreibt 4—5 größere Herde in den mittleren und südlichen Provinzen des Landes. Es ist nun interessant, zu finden, daß von den 33 zugezogenen erwachsenen Personen,

die 1911 und 1912 in Stockholm und Göteborg von der Kinderlähmung befallen wurden, 31 an Orten aufgewachsen waren, wo die Poliomyelitis nicht epidemischen Charakter gezeigt hatte. Nur ein einziger von diesen Fällen (No. 48) weilte während 1905 als Kind innerhalb eines Epidemieherdes, nämlich auf der Insel Torsö im Vänersee, wo 9 Fälle von Kinderlähmung während des genannten Jahres vorkamen. Betreffs des übrigbleibenden Falles (No. 32), dessen Aufenthaltsort während der Kindheit unbekannt ist, kann natürlich nichts gesagt werden. Wir können also den Schluß ziehen, daß 31 von den Zugezogenen während der Kindheitsjahre ganz geringe Möglichkeit gehabt haben, mit kinderlähmungsinfizierten Personen, wenigstens mit an typischen Symptomen erkrankten, in Berührung zu kommen. Anders stellt sich die Sache für die 24 eingeborenen Stadtbewohner, die die Epidemien der Jahre 1887, 1895, 1899 und 1903 in Stockholm bzw. Göteborg mitgemacht haben.

Wir haben also festgestellt, wie viele von den 1911 und 1912 in Stockholm und Göteborg erkrankten erwachsenen Personen eingeborene Stadtbewohner, und wie viele vom Lande her zugezogen waren. Es erhebt sich nun die Frage: wie stellt sich der Morbiditätsprozentsatz bei den beiden verschiedenen Kategorien der Bevölkerung? Um denselben berechnen zu können, ist es nötig, die Anzahl eingeborener Stadtbewohner und zugezogener Landbewohner in Stockholm und Göteborg innerhalb der Altersklassen, die hier in Frage kommen, zu kennen. Wie wir aus den Tabellen I und II ersehen, handelt es sich, mit Ausnahme von 5 Personen, um Individuen zwischen 15 und 30 Jahren. Die 5, älteren Jahresklassen angehörigen Personen waren bzw. 35, 41, 41, 46 und 58 Jahre alt. Ich habe es daher für zweckmäßig erachtet, die Anzahl der der Altersgruppe 15—30 Jahre angehörigen Personen der Berechnung des Morbiditätsprozentsatzes zugrunde zu legen.

Tabelle V.

Kategorien	Anzahl	Einwohner im Alter von 15—30 Jahren	Morbidität
In einer Stadt geboren	24	95 700	25 pro 100 000
Auf dem Lande geboren	33	59 200	55 „ 100 000

Eine statistische Berechnung des gegenseitigen Verhältnisses der eingeborenen und der zugezogenen Bevölkerung innerhalb verschiedener Altersklassen ist bisher, was Stockholm und Göteborg betrifft, nicht ausgeführt oder jedenfalls nicht veröffentlicht worden. Es hat sich daher als notwendig erwiesen, eine solche Berechnung für die Altersklasse 15 bis 30 Jahre zu bewerkstelligen. Die nachstehenden Zahlen sind von Herrn Aktuar Asproth auf Grund des Materials des Statistischen Zentralbureaus berechnet worden, welches Material von Herrn Oberdirektor Widell gütigst für den Zweck zur Verfügung gestellt wurde. Im Jahre 1910 war die Zahl der im Alter 15—30 Jahre stehenden Personen der Stockholmer Bevölkerung = 100 719. Von diesen waren ungefähr 60 300 in Städten und 47 400 auf dem Lande geboren. Die im Alter 15—30 Jahre stehende Bevölkerung von Göteborg betrug im selben Jahre 47 232 Personen, davon ungefähr 35 400 in Städten und 11 800 auf dem Lande geboren. In Stockholm und Göteborg zusammengenommen, fanden sich also im genannten Jahre 95 700 Individuen im Alter von 15 bis 30 Jahren, die in Städten, und 59 200, die auf dem Lande geboren waren. Gehen wir von diesen Ziffern aus, so finden wir also unter den eingeborenen Stadtbewohnern eine Morbidität von 25 pro 100 000 und unter den zugezogenen Landbewohnern eine solche von 55 pro 100 000, d. h. mit anderen Worten, eine nicht völlig halb so große Morbidität unter den ersteren wie unter den letzteren (siehe Tabelle V). Ich habe oben erwähnt, daß in Schweden 1911 in den von der Seuche befallenen Landgemeinden 16, in den Städten dagegen 6 Paresefälle auf 10 000 Einwohner kamen (Wernstedt). Der obigen Berechnung gemäß stellt sich das Verhältnis zwischen den von der Krankheit befallenen eingeborenen Stadtbewohnern und den zugezogenen Stadtbewohnern über 14 Jahre in Stockholm und Göteborg wie 25 zu 55. Es dürfte nicht zu kühn sein, diese Verhältnisse $\frac{16}{6}$ und $\frac{55}{25}$, die nicht sehr voneinander abweichen, in Beziehung zueinander zu setzen.

Wir kommen nun zu der zweiten aufgestellten Frage: Wie hat der Verlauf der Krankheit sich innerhalb der beiden verschiedenen Kategorien gestaltet? Wir werden nun sehen, daß auch in dieser Hinsicht eine Divergenz festzustellen ist (Tabelle VI).

Tabelle VI.

Kategorien	Anzahl	Typus der Krankheit		
		Todesfälle, schwere Paralysen	Leichte, zurückbleibende Paresen	Vorübergehende Paresen
Eingeborene Stadtbewohner	24	10 = 42 pro 100	5 = 21 pro 100	9 = 37 pro 100
Zugezogene Landbewohner	33	24 = 73 pro 100	7 = 21 pro 100	2 = 6 pro 100

Innerhalb der Gruppe „eingeborene Stadtbewohner“ finden wir die meisten leichten Fälle. Bei 5 von ihnen (No. 11—15), d. h. in 21 Prozent, traten nur leichte Paresen auf, die jedoch noch bei Untersuchungen zu Anfang des Jahres 1913 fortbestanden. In nicht weniger als 9 Fällen (No. 16—24), d. h. in 37 Prozent, waren zur Zeit der Nachuntersuchung alle Spuren der Krankheit verschwunden. Bei den 10 übrigen dagegen (No. 1—10) hatte die Krankheit einen bösartigen Charakter gehabt, entweder mit dem Tode endigend oder schwere, ausgebreitete Paralysen hinterlassend.

Die Gruppe „zugezogene Landbewohner“ weist dagegen ganz andere Prozentzahlen auf. Hier konstatieren wir, daß der größte Teil, 24 Fälle (No. 25—48), d. h. 73 Prozent, einen bösartigen Ausgang gehabt hat, indem die Krankheit entweder den Tod oder hochgradige Invalidität herbeiführte. Nur eine geringere Anzahl der Fälle ist gut verlaufen. Bei 7 (No. 49 bis 55), d. h. in 21 Prozent der Fälle, bestanden leichte Paresen fort, und nur bei 2 (No. 56, 57), d. h. in 6 Prozent, waren die Lähmungen vollständig vorübergegangen.

Die Kinderlähmung hat also bei den eingeborenen Stadtbewohnern in der Mehrzahl der Fälle einen gutartigen Verlauf genommen, ja, in einem großen Prozentsatz der Fälle trat resti-

tutio ad integrum ein. Bei den zugezogenen Landbewohnern dagegen finden wir, daß die Krankheit in der überwiegenden Anzahl der Fälle einen bösartigen Charakter gehabt hat und nur ausnahmsweise zu vollständiger Heilung gelangt ist.

Worauf kann nun diese größere Resistenz gegen Kinderlähmungen, gleichwie auch die niedrigere Morbidität unter den eingeborenen Stadtbewohnern beruhen? Da die Kinderlähmungsmikrobe bei Personen sich vorfinden kann, die keine stärker hervortretenden krankhaften Symptome aufweisen, und da eine Immunkörperbildung bei solchen Individuen demungeachtet stattfinden kann, liegt es wohl am nächsten, an eine durch eine vorausgehende leichte Infektion erworbene Immunität bei den eingeborenen Stadtbewohnern zu denken. Man wendet möglicherweise ein, daß, wenn sie wirklich vorher mit Poliomyelitisvirus infiziert gewesen waren, sie bei einer erneuten Infektion vollständig refraktär hätten sein müssen, so daß sich überhaupt keine krankhaften Störungen hätten zeigen dürfen. Aus Klings und Levaditis Untersuchungen über den refraktären Zustand bei Poliomyelitis und die mikrobizide Eigenschaft des Serums haben wir das Recht, den Schluß zu ziehen, daß die Immunkörperbildung bei den Nichtinfizierten und bei denen, die nicht sichtlich krankhaft gewesen sind, nicht so kräftig ist, wie nach einer typischen Kinderlähmung. Wahrscheinlich ist dann wohl auch die Immunität nach der abortiven und der invisiblen Infektion weniger vollständig und von kürzerer Dauer. Uebrigens haben wir Beispiele von anderen akuten Infektionskrankheiten, die Immunität nach sich ziehen, daß diese nicht immer das ganze Leben hindurch andauert. So hat man gesehen, daß Personen, die Variola durchgemacht haben, wieder von der Krankheit befallen werden können, diese zeigt dann aber dabei gewöhnlich einen milden Verlauf. Individuen, die in der Kindheit Keuchhusten gehabt haben, können als Erwachsene die Krankheit wiederbekommen, dann aber der Regel nach in abortiver Form.

Um die Vorliebe der Kinderlähmung für die Bevölkerung des platten Landes zu erklären, hat man auch an lokale Verhältnisse irgendwelcher Art, die die Entstehung der Infektion

begünstigen sollen, gedacht. Alle die fraglichen Erkrankten, sowohl die eingeborenen Stadtbewohner als auch die vom Lande zugezogenen, haben indessen unter denselben äußeren Bedingungen gelebt. Es kann demnach kein äußerer Faktor sein, der die höhere Morbidität bei der letzteren Kategorie bedingt, sondern die Ursache muß bei den Individuen selbst gesucht werden, und liegt dann wohl wahrscheinlich in ihrer größeren Empfänglichkeit für die Kinderlähmung.

Natürlich sind die Zahlen, die ich hier zur Stütze für die aufgestellte Hypothese angeführt habe, allzu klein, als daß sich aus ihnen völlig sichere Schlüsse ziehen ließen, sie scheinen mir aber doch entschieden zugunsten derselben zu sprechen, und ich habe sie daher vorlegen wollen als einen Beitrag zur Lösung einer bislang noch ungeklärten Frage innerhalb der Epidemiologie der Kinderlähmung.

Zusammenfassung.

In den Jahren 1911 und 1912 erkrankten an Kinderlähmung in den Städten Stockholm und Göteborg insgesamt 57 erwachsene Individuen. Von diesen standen 52 in dem Alter von 15—30 Jahren, die übrigen 5 gehörten älteren Jahresklassen an.

Von den Erkrankten waren 24 eingeborene Stadtbewohner und 33 auf dem Lande geboren und aufgewachsen, dann aber nach Stockholm bezw. Göteborg übergesiedelt.

In Stockholm und Göteborg zusammen fanden sich zu Ende des Jahres 1910 95 700 Individuen im Alter von 15 bis 30 Jahren, die in der Stadt geboren waren, und 59 200, die auf dem Lande geboren und später in die Stadt zugezogen waren. Die Morbidität an Kinderlähmung betrug demnach bei den erwachsenen eingeborenen Stadtbewohnern 25 pro 100 000 und bei den vom Lande zugezogenen 55 pro 100 000, d. h., sie ist bei den ersteren nicht völlig halb so groß wie bei den letzteren.

Bei den eingeborenen Stadtbewohnern hat die Kinderlähmung in der Mehrzahl der Fälle einen gutartigen Verlauf gehabt, ja, in einem großen Prozentsatz trat restitutio ad in-

tegrum ein. Bei den zugezogenen Landbewohnern dagegen hat die Krankheit in der überwiegenden Anzahl von Fällen einen bösartigen Charakter aufgewiesen, und nur ausnahmsweise kam es zu vollständiger Heilung.

Diese Tatsachen scheinen dafür zu sprechen, daß die erwachsenen eingeborenen Stadtbewohner, relativ genommen, eine größere Resistenz gegen die Kinderlähmung besitzen als die zugezogenen Landbewohner. Dieser refraktäre Zustand der eingeborenen Stadtbevölkerung ist aller Wahrscheinlichkeit nach als eine Immunität aufzufassen, erworben durch eine vorausgehende, meistens während der Kindheitsjahre durchgemachte, leichte, nicht diagnostizierte Infektion, die ihrerseits durch die reichen Möglichkeiten eines Kontaktes mit Infektionsträgern, wie sie in den größeren Städten vorliegen, begünstigt gewesen ist.

Literatur.

Wickman, J., Beiträge zur Kenntnis der Heine-Medinschen Krankheit. Berlin, S. Karger, 1907.

Kling, Petterson and Wernstedt, Investigations on epidemic infantile paralysis. Report from the State Medical Institute of Sweden to the XV. International Congress on Hygiene and Demography, Washington 1912. Stockholm, Nordiska Bokhandeln, 1912.

Kling et Levaditi, Études sur la poliomyélite aiguë épidémique. Publication de l'Institut Pasteur de Paris. Paris 1913.

Flexner, Clark and Fraser, Journ. of the Amer. Med. Assoc., Vol. 60, 1913, No. 3.

Osgood and Lucas, ibidem 1913.

Kling und Pettersson, Deutsche med. Wochenschr., 1914, No. 7.

Wernstedt, Barnförlamningsepidemien, Sverige 1911. Kungl. Medicinalstyrelsens Berättelse, 1911.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin (Direktor: Geh. Obermedizinalrat Prof. Dr. Löffler; Abt.-Vorsteher: Prof. Dr. Neufeld).]

Quantitative Versuche über das Verbleiben von chemotherapeutischen Mitteln in der Blutflüssigkeit behandelter Menschen und Tiere.

Von **E. Boecker**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Oktober 1914.)

Die nachstehenden Untersuchungen sollen einen Beitrag zu der Frage der Verteilung chemotherapeutischer Stoffe im Körper bringen, und zwar zu der, wie uns scheint, nächstliegenden Frage des Verbleibens dieser Stoffe im zirkulierenden Blut. Ceteris paribus darf man annehmen, daß eine Substanz, die die Vorbedingungen eines chemotherapeutischen Mittels besitzt — nämlich eine im Verhältnis zu ihrer Giftigkeit starke und elektiv parasitizide Wirkung, die durch das Blut und die Körperflüssigkeiten nicht wesentlich beeinträchtigt wird — um so wirksamer sein wird, je langsamer sie nach irgendeiner Art von Einverleibung wieder aus dem Kreislauf verschwindet. Es ist bekannt, daß in dieser Beziehung manche beim Vitroversuch in Bouillon und Serum gleich gut desinfizierende, relativ ungiftige Mittel versagen, wie z. B. das Collargol, von dem nach Cohn schon 45 Minuten nach intravenöser Injektion bei Kaninchen nicht die geringste Spur mehr im Blute nachzuweisen war, während sich bereits nach 3 Minuten in fast sämtlichen Geweben Silber niedergeschlagen hatte. Dieses Beispiel zeigt die Bedeutung der von Ehrlich stets betonten Forderung der geringen Organotropie bei chemotherapeutischen Mitteln.

Bezüglich der wirksamen Chemotherapeutika liegen merkwürdigerweise exakte quantitative Untersuchungen über den Verbleib im zirkulierenden Blut noch kaum vor. Daß jedoch Salvarsan

einige Zeit nach der Injektion in genügenden Mengen im Blut vorhanden ist, um eine spezifische Wirkung auf Parasiten auszuüben, geht aus den Versuchen, die Gonder, Castelli, Swift und Ellis an Spirochäten, Roos an Milzbrandbacillen anstellten, mit Sicherheit hervor; desgleichen für Optochin aus Wrights Mitteilungen. Abelin untersuchte in einigen Fällen das Blutserum von Menschen nach der unten zu besprechenden chemischen Methode und konnte bis 1½ Stunde nach der Injektion von 0,3—0,6 Salvarsan solches (qualitativ) im Blutserum nachweisen. Ullmann fand im Serum von Kaninchen mittels der Ehrlichschen Reaktion bis zu 20 Minuten nach der Injektion von 0,4—0,6 Altsalvarsan Reste desselben vor. Stühmer, der Kaninchen recht hohe Dosen intravenös applizierte, konnte mit der gleichen Reaktion den Nachweis noch nach 48 Stunden führen. Die Ausscheidung schien beim Neosalvarsan etwas schneller vor sich zu gehen als beim Altsalvarsan [1]). In einer kürzlich erschienenen Dissertation berichtet Mayrhofer, daß bei Meerschweinchen 24, meist auch noch 48 Stunden nach subkutaner Injektion von Neosalvarsan im Serum noch genügende Mengen desselben im Körper vorhanden waren, um die betreffenden Tiere gegen eine nachträgliche Milzbrandinfektion zu schützen; in vitro tötete das Meerschweinchenserum bei Entnahme nach 24, nicht mehr nach 48 Stunden noch in der Verdünnung 1 : 10 Milzbrandbacillen, während das Serum subkutan injizierter Menschen bei gleicher Versuchsanordnung nur wirksam war, wenn mehrere Injektionen vorangegangen waren.

Lockemann ermittelte bei einer Reihe von wirksamen Arsenikalien die Schnelligkeit der Ausscheidung durch die Nieren. Die Reihenfolge der untersuchten Mittel, wenn man sie nach der Geschwindigkeit des Austrittes durch den Urin anordnet, war: Atoxyl, Arsacetin, Arsenophenylglycin, Salvarsan. Während vom Atoxyl 24 Stunden nach der subkutanen Injektion bereits 85 Proz. durch die Nieren eliminiert waren, ging die Ausscheidung des Salvarsans im Harn im

---

1) Eine Verstärkung der Ehrlich-Bertheimschen Reaktion durch Inaktivierung des Serums, wie sie Stühmer fand, konnten wir bei unseren Versuchen übrigens niemals konstatieren; im Gegenteil trat jedesmal nach einer solchen Vorbehandlung eine deutliche Abschwächung ein.

ganzen äußerst langsam vor sich, sie betrug etwa 2 Proz. nach intravenöser, 0,2 Proz. nach subkutaner Injektion. Noch nach 7 Wochen fand Lockemann deutlich nachweisbare Mengen von As im Urin. Merkwürdigerweise schienen Frauen das Mittel schneller auszuscheiden als Männer. Igersheimer und Rothmann injizierten Kaninchen intravenös Atoxyl und entbluteten die Tiere nach bestimmter Zeit möglichst vollständig. Auf diese Weise konnten sie in dem aufgefangenen Blut bei Tötung der Tiere nach 5—10 Minuten etwa $^1/_{12}$, nach $1^1/_2$ Stunde $^1/_{500}$ des eingespritzten Atoxyls wiederfinden. Ein ähnliches Resultat hatte Moldavan bei Versuchen mit Ratten, während Paraminophenylarsinoxyd bereits nach einer Minute nicht mehr nachzuweisen war.

Wir haben nun eine Reihe von Versuchen angestellt, die uns über die quantitativen Verhältnisse des Verbleibens chemotherapeutischer Stoffe im Blut von Menschen und Tieren Aufklärung verschaffen sollten. Um möglichst einfache Verhältnisse zu haben, bedienten wir uns dabei zunächst fast nur der intravenösen Injektion der betreffenden Mittel. Weitere derartige Versuche würden unseres Erachtens für die Beantwortung vieler Einzelfragen auch in klinischer Hinsicht von Interesse sein. So würde sich z. B. auf diese Weise feststellen lassen, bei welcher Art der Applikation der wirksame Stoff möglichst lange in hoher Konzentration im Blute kreist; es würde diejenige Modifikation des Salvarsans (Alt-, Neo- usw.), die am längsten im Blut persistiert, von vornherein als besonders zweckmäßig anzusehen sein. Von Interesse wäre es auch, festzustellen, ob sich Personen, die eine starke Ueberempfindlichkeit gegen Salvarsan zeigen, in dieser Hinsicht abweichend verhalten. Ferner können solche Blutuntersuchungen, wie die Versuche mit Optochin zeigen, auch zur Erklärung der Frage beitragen, weshalb ein bestimmtes Mittel bei einer Tierart verhältnismäßig gut, bei einer anderen schlecht wirkt.

I. Ueber das Verhalten des Salvarsans nach intravenösen Injektionen bei Menschen und Kaninchen.

Unsere Untersuchungen über den Verbleib des Salvarsans im Körper erstrecken sich auf das Serum von vorbehandelten

Menschen, Kaninchen, Meerschweinchen und einem Pferd. Das Blut wurde stets nach einer bestimmten Zeit nach der intravenösen Injektion entnommen, und das Serum meist am nächsten Tage verwertet. Falls jedoch von einem Versuchsobjekt mehrere Serumproben vorhanden waren, wurden dieselben immer zu gleicher Zeit und mit denselben Reagentien geprüft. Zum Nachweis des Chemikale bedienten wir uns hauptsächlich der beiden bekannten Reaktionen, die von Ehrlich-Bertheim und Abelin angegeben wurden. In einigen Fällen wandten wir daneben zum Vergleich eine biologische Methode an, indem wir die entwicklungshemmende Wirkung der betreffenden Sera auf Milzbrandbacillen und Rotlauf prüften.

Im allgemeinen war der Gang unserer Untersuchungen folgender: Nachdem das Serum gewonnen war, wurde unter Zugrundelegung des Verhältnisses Körpergewicht zu Blutflüssigkeit = 1 : 15 der Verdünnungsgrad des Salvarsans, der unmittelbar nach der Injektion in der Blutflüssigkeit bestehen mußte, berechnet[1]). Danach wurde, um einen quantitativen Vergleich zu ermöglichen, ein normales Serum, das entweder demselben Individuum vor der Injektion entnommen war oder von einem anderen der betreffenden Art stammte, in vitro mit ebensoviel Salvarsan versetzt, als dieser Berechnung entsprach. Da alle geprüften Salvarsanmodifikationen sich bezüglich der chemischen Reaktionen, die wir anstellten, genau gleichartig verhielten, glaubten wir uns die Vereinfachung gestatten zu dürfen, auch da, wo bei den untersuchten Menschen Neo- oder Natrium-Salvarsan in Anwendung gekommen war, die Kontrolle mit Altsalvarsan herzustellen, natürlich unter entsprechender Reduktion der Menge desselben (3 : 2). Beide Sera, die Kontrolle und das zu untersuchende, wurden nun mit physiologischer Kochsalzlösung stufenweise verdünnt und in beiden Reihen die Grenzverdünnung festgestellt, bei der die Reaktion aufhörte. Durch eine Anzahl

---

1) Wir haben dieses Verhältnis, das den Tatsachen bei allen Versuchsobjekten vielleicht nicht ganz entspricht, als Durchschnitt gewählt. Da leider die Beziehung von Körper- zu Blutgewicht noch immer nicht in allerseits anerkannter Weise geklärt ist, mußte diese Annahme bis zu einem gewissen Grade willkürlich sein.

von Vorversuchen überzeugten wir uns zunächst, daß der Ausfall der Reaktionen beider Art von dem Gehalt der betreffenden Flüssigkeit an Serum praktisch ganz unabhängig ist und nur dem Grade der Salvarsanverdünnung entspricht. Hiernach konnten wir die bei der Prüfung der Kontrolle gefundenen Grenzverdünnungen des Salvarsans zur Berechnung auf das zu untersuchende Serum beziehen. Hörte beispielsweise die Ehrlichsche oder die Abelinsche Probe bei einer 100-fachen Verdünnung der Kontrolle und einer 20-fachen solchen des fraglichen Serums auf, so durften wir annehmen, daß das erstere 5mal so viel Salvarsan enthielt wie das letztere. Wenn nun der Salvarsangehalt der Kontrolle dem ursprünglich im Serum des behandelten Tieres vorhandenen entsprach, würde dessen Serum nur noch annähernd den 5. Teil des ursprünglich in ihm gelösten Chemikale enthalten haben; natürlich liefert diese vergleichende Methode nur annähernde Werte.

Bemerkt sei noch, daß die absoluten Grenzverdünnungen bei den Kontrollsera bisweilen gewisse Verschiebungen erfuhren. Das mag einmal an dem Alter (Reifungszustand) der betreffenden Reagentien liegen, dann aber spielen wohl auch Temperaturunterschiede eine Rolle. Das letztere ist namentlich bei der Abelinschen Methode der Fall, wo flüchtige Stoffe, die durch höhere Temperaturen eine Einbuße erleiden, die Hauptrolle spielen. Vielleicht empfiehlt es sich hier sogar, künftighin die Prüfung nur im Eisbad vorzunehmen. Trotzdem glauben wir aber aus unseren Resultaten doch sichere Schlüsse ziehen zu dürfen, da wir die Berechnungen durchweg nur im Rahmen eines und desselben Versuches anstellten, so daß, wenn wirklich die Reaktion andere Werte als am Tage vorher ergab, die Verschiebung bei den gleichartigen Bedingungen in Kontrolle und Serum in gleicher Weise stattgefunden haben mußte.

Die Probe nach Ehrlich-Bertheim stellten wir so an, daß wir im Reagenzröhrchen zu je 1 ccm der fraglichen Serumverdünnung 3 Tropfen einer salzsauren alkoholischen Lösung von Paradimethylamidobenzaldehyd zutropften. Es tritt dann beim Vorhandensein von Salvarsan ein saftiggelber bis orangeroter Farbton auf, der je nach der Konzentration des Chemikale verschieden stark ist. Bei etwa 150000-facher Verdünnung des Salvarsans beginnt die Reaktion undeutlich zu werden, indem das Gelb allmählich verblaßt. Manchmal hält es, wenn man sich der Grenzverdünnung nähert, recht

schwer, zu sagen, ob die Reaktion noch positiv ausgefallen ist oder nicht. Um hier besser urteilen zu können, füllten wir das Serum nach Anstellung der Probe in Uhlenhuthsche Röhrchen um, die wir dann von oben her betrachteten, indem wir das von einem weißen Bogen reflektierte Licht die Flüssigkeitssäule passieren ließen. Daneben wurde stets ein Röhrchen mit derselben Verdünnung des gleichen Serums ohne Zusatz von Reagens gehalten. Nach genauer Prüfung schien uns die hier beschriebene Methode die besten und sichersten Resultate zu liefern; jedenfalls sahen wir in der Zuziehung von Sublimat zum Reagens keinen Vorteil. Wenn Stühmer mit demselben so gute Resultate erzielt hat, so findet das seine Erklärung wohl darin, daß er nur mit unverdünnten Sera arbeitete.

Wenn auch die beschriebene Probe im allgemeinen brauchbare Resultate ergibt, so hat sie doch einen Mangel: sobald es sich nämlich um die Prüfung von Sera handelt, die an sich schon saftiggelb bis rötlichgelb gefärbt sind (vgl. unten), besteht die Schwierigkeit, den neuentstandenen Farbton von dem bereits vorhandenen zu unterscheiden. Hier schien uns die Reaktion nach Abelin brauchbarer zu sein, da sie eine genaue Bestimmung der Grenzverdünnung unabhängig von der Ursprungsfarbe des Serums zuläßt.

In ein Uhlenhuthsches Röhrchen füllten wir ca. 1,5 ccm der Natronlauge-Resorcinmischung. Nachdem darauf in einem Reagenzröhrchen 1 ccm der fraglichen Serumverdünnung mit 2 Tropfen einer verdünnten Salzsäure- und 3 Tropfen einer 0,5-proz. Natriumnitritlösung versetzt worden war, schichteten wir diese sofort mit der Pipette vorsichtig auf das Reagens. Beim Vorhandensein von Salvarsan tritt dann an der Berührungsfläche fast unmittelbar danach ein etwa 1 mm breiter rosa bis roter Ring auf, der oben und unten von je einem sehr schmalen gelben begrenzt wird. Diese beiden gelben Einfassungsringe treten auch dann auf, wenn kein Salvarsan vorhanden ist; sie lassen dann eine schwach gelbliche Lücke zwischen sich frei. Gelegentlich bildet sich bei negativem Ausfall statt dessen auch ein einfacher, etwas breiterer schmutzig-gelber Ring. Stets ist die Reaktion sehr vergänglicher Natur; deshalb ist es übrigens auch angezeigt, bei jedem überraschenden negativen Ausfall eine Zwischenprobe auf salpetrige Säure zu machen. Die Grenzverdünnung der Reaktion lag im Mittel bei 900000-facher Verdünnung des Salvarsans und war unabhängig von derjenigen des Serums. Gelegentlich war sie aber auch bis zu 1 500 000 hinausgerückt. Aus den bereits mitgeteilten Gründen schien uns aber diese Unregelmäßigkeit unseren Berechnungen nicht hinderlich zu sein.

Wo es die Menge des zur Verfügung stehenden Materials erlaubte, wurden die beiden beschriebenen Proben gleichzeitig angestellt. Bis auf geringe Abweichungen stimmten dabei die beiderseits gefundenen Zahlen genügend miteinander überein.

Zum biologischen Nachweis des Salvarsans stellten wir uns wie zum chemischen eine Kontrolle mit entsprechendem Zusatz von Salvarsan her.

Auch hier wurden beide Sera (Kaninchen) in fortlaufender Progression verdünnt, und zwar mit Bouillon bei einem Milzbrandversuch, mit normalem Kaninchenserum bei einem solchen mit Rotlauf. Alle Röhrchen bekamen eine bestimmte gleiche Einsaat von der betreffenden Bakterienart, deren Entwicklungshemmung nach 24 Stunden bei 37° beobachtet wurde. Die so gewonnenen beiderseitigen Grenzverdünnungen verwandten wir dann ebenfalls zur Berechnung des Salvarsangehaltes im fraglichen Serum. Neben den anderen üblichen Kontrollen wurde im speziellen Fall des Milzbrandversuches noch eine solche angestellt, die uns versicherte, daß die kleinen Mengen des verdünnten Serums in den Bouillonröhrchen an und für sich ohne hemmende Wirkung blieben.

Erwähnt sei noch die Erscheinung, daß sich die Sera von salvarsanbehandelten Menschen und Tieren sehr oft durch einen goldgelben Farbton von den normalen Sera derselben Individuen vor der Injektion unterschieden. Die Beobachtung wurde so häufig gemacht, daß es sich nicht um einen Zufall, sondern um eine Folgeerscheinung der Salvarsaninjektion handeln dürfte. Dieser Umstand war der Anstellung der Ehrlich-Bertheimschen Reaktion speziell beim Menschen gelegentlich sehr hinderlich.

Als Beispiele für unser Vorgehen seien zwei konkrete Fälle geschildert:

1) Ein Kaninchen von 2 kg Gewicht bekommt so viel Altsalvarsan in 1-proz. alkalischer Lösung in die Ohrrandvene injiziert, daß nach unserer Berechnung in der Blutflüssigkeit eine Konzentration von 1 : 1300 vorliegen mußte. Das Tier wurde nach einer Stunde entblutet, und das im Eisschrank abgesetzte Serum am nächsten Tage zusammen mit einem normalen Kaninchenserum, dem annähernd dieselbe Salvarsanmenge zugesetzt war, nach der Ehrlich-Bertheimschen Methode geprüft.

Kontrollserum:

Salvarsanverdünnung 1 : 150 000 = ±
1 : 200 000 = 0

Serum des behandelten Tieres:

Verdünnt 1 : 25 = +
1 : 30 = ±
1 : 45 = 0

Legen wir der Berechnung die für schwach positive Reaktion gefundenen Werte zugrunde, so verhält sich das nach einer Stunde im Serum vorhandene Salvarsan zu dem der Berechnung nach ursprünglich darin vorhandenen wie $\frac{1300 \times 30}{150\,000}$ = ca. $^1/_4$. Die Prüfung desselben Serums nach Abelin ergab:

Kontrollserum:

Salvarsanverdünnung 1 : 600 000 = +
1 : 900 000 = ±
1 : 1 200 000 = 0

Serum des behandelten Tieres:

Verdünnung 1 : 120 = +
1 : 150 = 0

Auch hier ergibt sich bei Vergleichung der für + gefundenen Werte annähernd dasselbe Verhältnis von etwa 1 : 4.

2) Ein Kaninchen erhielt intravenös so viel Altsalvarsan, daß eine Verdünnung von 1 : 2700 in der Blutflüssigkeit vorliegen mußte. Entnahme des Serums nach 2 Stunden, Prüfung nach Abelin:

Kontrollserum:

Salvarsanverdünnung 1 : 1 200 000 = +
1 : 1 500 000 = ±
1 : 1 800 000 = 0

Serum des injizierten Kaninchens:

Verdünnung 1 : 75 = +
1 : 100 = ±
1 : 150 = 0

Hieraus ergibt sich das Verhältnis $\frac{2700 \times 100}{1\,500\,000}$ = 1 : 5,5.

Es war also nach 2 Stunden noch ca. 1 : 5,5 des ursprünglichen Salvarsangehaltes chemisch nachweisbar.

Einen Teil desselben Serums und des Kontrollserums benutzten wir zu einer biologischen Prüfung, indem wir beide stufenweise mit Bouillon verdünnten und in die 1 ccm enthaltenden Röhrchen je $^1/_{10}$ Tropfen einer stark geschüttelten Milzbrand-Bouillonkultur einsäten. Brutschrank 37°, Beobachtung nach 24 Stunden.

0 = kein Wachstum.
± = eine kleine Milzbrandflocke.
+ = gutes Wachstum.

Kontrollserum:

Salvarsanverdünnung 1 : 1 920 000 = 0
1 : 2 560 000 = ±

Kontrolle ohne Salvarsan = +.

Serum des vorbehandelten Tieres:

Verdünnung 1 : 128 = 0
1 : 192 = ±

Gehen wir von den für schwaches Wachstum gefundenen Zahlen aus, so ergibt die Berechnung, daß sich die nach 2 Stunden vorhandenen Salvarsanmengen zu der anfangs vorhanden gewesenen verhalten wie 2700 × 192 : 2 560 000, also annähernd wie 1 : 5. Eine so genaue Uebereinstimmung mit dem durch die chemische Reaktion gefundenen Werte von 1 : 5,5 ist natürlich nur Zufall, da wir ja nach beiden Methoden nur Annäherungswerte erhalten.

In der beigefügten Tabelle No. I sind die Resultate, die wir mit der geschilderten Versuchsanordnung erzielten, zusammengestellt. In der 5. Kolumne findet sich die Salvarsanverdünnung angegeben, die wir unter Zugrundelegen des Verhältnisses Körpergewicht zu Blutflüssigkeit = 1 : 15 berechneten. Diese Angaben beziehen sich stets auf Altsalvarsan; bei Neosalvarsan und dem ihm in der Stärke entsprechenden neuen Präparat Natrium-Salvarsan ist der Gehalt in der bekannten Weise auf Altsalvarsan (= 3 : 2) umgerechnet. In der 6.—10. Reihe ist der Bruchteil des ursprünglich im Blute vorhandenen Salvarsans angegeben, der nach 1, 2, 4, 24, 48 Stunden festgestellt wurde. Es sei nochmals betont, daß es sich bei den Resultaten natürlich nur um Annäherungswerte handelt.

Bei allen Versuchen, außer No. 22, wurde das Salvarsan intravenös eingespritzt.

Es erweist sich, daß bei den Kaninchen 1 bis 2 Stunden nach der Injektion noch beträchtliche Mengen des Chemikale im Blut kreisen; die Grenzwerte waren $^2/_3$ und $^1/_5$, im Durchschnitt wurde $^1/_3$ des ursprünglichen Gehaltes gefunden. Die beiden Meerschweinchen zeigten nach 4 Stunden noch etwa $^1/_5$, das Pferd nach 2 Stunden nur etwa noch $^1/_8$ des Anfangsgehaltes. Interessant ist es, daß bei den Kaninchen

Tabelle I.

E = Ehrlich-Bertheimsche Reaktion; A = dgl. nach Abelin; B_1 = biologischer Versuch mit Rotlauf; B_2 = dgl. mit Milzbrandbacillen; E: 0 bzw. A: 0 bedeutet: Salvarsan nicht mehr nachweisbar.

No.	Versuchs-objekt	Ge-wicht	Art des Salvarsans	Menge	Verdünnung im Blut ca.	Reste des Salvarsans nach Stunden					Bemerkungen
						1	2	4	24	48	
1	Kaninchen	ca. 2 kg	Altsalv.	.	1 : 20 000	.	E: $^1/_5$	.	A: $^1/_{15}$	.	.
2	„	„	„	.	1 : 20 000	.	E: $^1/_4$	.	.	.	.
3	„	„	„	.	1 : 20 000	.	E: $^1/_{1·6}$	.	.	.	.
4	„	„	„	.	1 : 1440	.	.	.	E: $^1/_{10}$	.	.
5	„	„	„	.	1 : 15 000	.	E: $^1/_3$—$^1/_4$	.	.	.	.
6	„	„	„	.	1 : 15 000	.	.	.	A: 0	.	.
7	„	„	„	0,05 pro 1 kg	1 : 1300	.	E: $^1/_2$—$^1/_3$	.	E: $^1/_8$	.	.
8	„	„	„	0,1 pro 1 kg	1 : 650	E: $^1/_{1·6}$	.	.	.	.	.
9	„	„	„	.	1 : 1300	E: $^1/_4$ A: $^1/_4$ B_1: $^1/_{12}$	.	.	.	.	.
10	„	„	„	.	1 : 2700	.	E: $^1/_{3·4}$ A: $^1/_{5·5}$ B_2: $^1/_5$	.	.	.	.
11	Meerschw.	300 g	„	0,003	1 : 7000	.	E: $^1/_{1·4}$	E: $^1/_{3·5}$	.	.	.
12	„	305 „	„	0,006	1 : 3330	.	.	E: $^1/_4$	E: 0	.	.
13	Pferd	402 kg	„	2,0	1 : 13 400	.	A: $^1/_8$	.	.	.	.
14	Mensch, m.	69 „	Na.-Salv.	0,4	1 : 17 000	.	E: $^1/_{1·8}$	.	.	.	1. Injektion
15	„ „	70 „	„	0,3	1 : 23 500	.	E: $^1/_{1·3}$	.	.	.	1. „
16	„ w.	70 „	Altsalv.	0,4	1 : 12 000	.	A: $^1/_{20}$	.	A: 0	.	Shock nach der Injektion
17	„ m.	72 „	Na.-Salv.	0,6	1 : 12 000	.	A: $^1/_5$	.	.	A: $^1/_{6·5}$	Bereits vorbehandelt
18	„ „	73,5 „	„	0,6	1 : 12 250	.	A: $^1/_7$	.	A: 0	.	„ „
19	„ „	56 „	Na.-Salv.	0,3	1 : 18 500	.	E: $^1/_{2·5}$	.	.	.	„ „
20	„ „	65 „	„	0,3	1 : 21 000	.	E: $^1/_{2·5}$	.	.	.	„ „
21	„ w.	50 „	Altsalv.	0,3	1 : 11 000	.	E: $^1/_{10}$	.	E: 0 A: 0	.	„ „
22	„ m.	68 „	Neosalv.	0,45	1 : 15 000	.	E: 0 A: 0	.	E: 0 A: 0	.	Subkutane Injektion

der relative Verlust des Salvarsans nach 2 Stunden in keinerlei Beziehung zu den Anfangsverdünnungen zu stehen scheint. Trotz großer Unterschiede bei den letzteren weichen die Bruchteile nur wenig voneinander ab. In den nach 24 Stunden entnommenen Sera der Kaninchen war bei 3 Tieren noch ein erheblicher Bruchteil ($^1/_8$—$^1/_{15}$) vorhanden, während bei einem Tier die Reaktion auch nach Abelin nicht mehr positiv ausfiel.

Bei intravenös behandelten Menschen waren nach 2 Stunden meistens noch recht beträchtliche Mengen des Chemikale vorhanden, im Durchschnitt $^1/_6$ der injizierten Menge; die Grenzwerte waren etwa $^3/_4$ und $^1/_{20}$. Ob das schnelle Verschwinden des Salvarsans im letzten Fall mit der erhöhten Empfindlichkeit der Patientin in Zusammenhang zu bringen ist, können erst weitere Untersuchungen lehren, ebenso ob es Zufall ist, daß die beiden mit Altsalvarsan behandelten Fälle die niedrigsten Werte lieferten.

Auch nach 24 Stunden war das Verhalten im allgemeinen ungünstiger als bei den Kaninchen; in 4 Fällen war das Ergebnis negativ, in einem 5., der nach 48 Stunden untersucht wurde, war noch etwa $^1/_{65}$ der injizierten Menge vorhanden.

Bei einem subkutan mit Neosalvarsan injizierten Patienten konnten wir weder nach 2 noch nach 24 Stunden Salvarsan im Blute nachweisen. Zu bemerken ist noch, daß bei 5 von den 9 aufgeführten Fällen bereits eine bis mehrere, zum Teil subkutane, zum Teil intravenöse Injektionen vor der untersuchten gemacht worden waren. Trotzdem das Intervall zwischen der letzteren und der vorhergehenden nur 3 Tage betrug, gelang es uns nie, in dem vor der Injektion entnommenen Serum noch Salvarsan nachzuweisen.

Ueber etwaige Unterschiede im Verhalten der neueren Salvarsanpräparate können wir noch kein Urteil abgeben. Nach Stühmer und Mayrhofer soll Neosalvarsan den Körper schneller verlassen als Altsalvarsan.

Die hier berührten Fragen können wohl nur durch umfangreiche systematische Untersuchungen der Lösung näher gebracht werden. Wir begnügen uns vorläufig mit dem Hin-

weis, daß die von uns angewandte Methode vielleicht geeignet ist, manche Zweifel bezüglich der Methodik der Salvarsananwendung in der Folge aufzuklären.

Erwähnt sei noch, daß man durch mehrmalige Wiederholung der Injektion kurz hintereinander die Konzentration des Salvarsans im Blute anscheinend steigern kann. So nahm dieselbe bei dem in der Tabelle aufgeführten Pferd, als dieses dreimal in 2-stündlichen Intervallen je 2 g Altsalvarsan intravenös erhielt, ein wenig zu: 2 Stunden nach der ersten Injektion war die Konzentration 1 : 104 000, 2 Stunden nach der zweiten 1 : 55 000, desgleichen nach der dritten 1 : 44 000.

II. Versuche mit Optochin (Aethylhydrokuprein).

Quantitative Versuche über das Verbleiben des Optochins im Blut liegen unseres Wissens bisher nicht vor. Wright konnte im Serum von mehreren vorbehandelten Menschen und Mäusen im biologischen Versuch durch die bakterizide Wirkung auf Pneumokokken die Anwesenheit von Optochin feststellen, während ihm dieser Nachweis anscheinend beim Kaninchen nicht gelungen ist.

Unsere eigenen Untersuchungen über das quantitative Verhalten des durch intravenöse Injektion in den Blutkreislauf eingebrachten wässerig gelösten Optochins sind nicht sehr zahlreich und beruhen ausschließlich auf dem biologischen Verfahren. Die zur Verfügung stehenden chemischen Reaktionen versagten nämlich im Serum, selbst in künstlich hergestellten Gemischen. Wir begnügten uns daher vorläufig mit dem biologischen Verfahren, indem wir das Verhalten von Pneumokokken beobachteten, die in abgestufte Verdünnungen des Serums bzw. Citratblutes der mit Optochin behandelten Tiere eingesät wurden. Die Verdünnungen des Serums wurden in allen Fällen mit Serum, die des Citratblutes wieder mit Citratblut derselben Tierart vorgenommen. Im übrigen war unser Verfahren ähnlich wie bei den Salvarsanuntersuchungen. Die Tiere, Kaninchen und Meerschweinchen, bekamen in 0,3-proz. wässeriger Lösung so viel Aethylhydrokuprein mur. in die Ohrrandvene injiziert, daß eine bekannte Verdünnung im Blut entstehen mußte. Nach einer bestimmten Zeit wurde dann

entblutet und Serum bzw. Citratblut nebst entsprechenden künstlichen Kontrollgemischen hergestellt. Die Einsaat in die je 1 ccm haltenden Röhrchen bestand stets in $^1/_{10}$ Tropfen einer 24-stündigen Serumbouillonkultur von Pneumococcus I.

Die unverdünnten Sera von 4 Kaninchen, die 10, 45, 60 und 120 Minuten nach der Injektion (Verdünnung 1:6333 bzw. 8000) entblutet worden waren, ließen die Einsaat genau so gut wie das normale Kontrollserum ungehemmt wachsen. In der Kontrolle mit Optochin war dabei das Wachstum bei einer Verdünnung des letzteren von 1:320 000 = 0 und von 1:600 000 = +. Es war also hiernach jedenfalls weniger als $^1/_{40}$ der injizierten Menge vorhanden. Günstiger war das Resultat bei zwei analogen Untersuchungen an Meerschweinchen. Die ursprünglichen Verdünnungen des Mittels im Serum waren hier 1:7500 bzw. 1:8000. Im ersteren Fall wurde das Tier 2 Stunden nach der Injektion entblutet, und mit dem gewonnenen Serum ein biologischer Versuch angestellt, bei dem alle Verdünnungen mit Hilfe von normalem Meerschweinchenserum hergestellt wurden. Während nun die Röhrchen der Kontrolle oberhalb der üblichen Grenze von 1:320 000 und alle Verdünnungen des zu untersuchenden Serums ein normales Wachstum der Pneumokokken aufwiesen (+), hatte das letztere in unverdünntem Zustand eine deutliche Entwicklungshemmung hervorgerufen (±). Geringes Wachstum war aber auch hier noch vorhanden, so daß sich der Versuch nach der quantitativen Seite nicht genau verwerten ließ; offenbar lag aber die nach 2 Stunden im Serum vorhandene Optochinmenge nicht weit unter $^1/_{40}$ der injizierten. Das zweite Meerschweinchen wurde 30 Minuten nach der Injektion entblutet. Das Resultat war:

Kontrollserum:

Optochinverdünnung 1:320 000 = 0
1:640 000 = +

Serum des zu untersuchenden Tieres:

Verdünnung 1:1 = 0
1:5 = +
1:10 = +

Das unverdünnte fragliche Serum hatte also jedes Wachstum verhindert. Man darf wohl annehmen, daß das betreffende

Röhrchen mindestens ebensoviel Optochin enthielt wie die Kontrolle 1:320000, die die Grenze der Entwicklungshemmung darstellt. Aus der Berechnung 8000:320000 ergäbe sich dann, daß nach 30 Minuten noch wenigstens $^{1}/_{40}$ des ursprünglich dem Blute einverleibten Mittels im Serum wirksam wäre. Ist das auch scheinbar recht wenig, so verhalten sich doch Kaninchen und Meerschweinchen in diesem Punkte deutlich verschieden voneinander. Eine ähnliche Differenz zwischen dem Kaninchen einerseits und Mensch und Maus andererseits hatte früher schon Wright konstatieren können. Soviel uns bekannt, ist bei Kaninchen im Gegensatz zu Mäusen und Meerschweinchen auch in vivo noch kein Erfolg mit Optochin beschrieben worden. Bei den erstgenannten Tieren ist übrigens die intravenöse Injektion des Optochinsalzes, wie wir sie anwendeten, von weniger guter Wirkung als die subkutane Applikation der in Oel gelösten Base; vermutlich wird auf letztere Weise eine günstigere Konzentration im Blut erreicht.

Wir haben nun noch zwei Versuche an Kaninchen gemacht, wobei wir an Stelle des Serums bzw. in einem Falle neben dem Serum das Citratblut untersuchten.

Den beiden Kaninchen wurde so viel Optochin injiziert, daß im Blute eine Konzentration von 1:8000 entstehen mußte. Entblutung nach 10 Minuten, Untersuchung von Citratblut und Serum. In der Kontrolle mit normalem Citratblut waren in beiden Reihen die eingesäten Pneumokokken nach 24 Stunden gut gewachsen, wenn auch etwas schwächer als im Serum. Die Optochinkontrollen waren alle ohne Wachstum, da die Grenzverdünnung von 600000 nicht erreicht wurde. Die beiden zu untersuchenden Blutproben hatten unverdünnt beide absolute Entwicklungshemmung und Abtötung erzeugt (Feststellung der letzteren durch Aussaat von einer Oese auf Hämoglobinagar). In einem der beiden Fälle traf das auch noch in dem zu gleichen Teilen mit normalem Citratblut verdünnten Röhrchen zu, aber nicht mehr bei der dreifachen Verdünnung. Bei dem anderen wurde neben dem Citratblut noch das Serum des betreffenden Tieres geprüft. Es ließ die Pneumokokken ungehemmt wachsen. Aus diesen Befunden scheint uns hervorzugehen, daß vielleicht die Blutkörperchen an der schnellen Fixation des Mittels im Kaninchenorganismus beteiligt sind. Diese Verhältnisse bedürfen noch der näheren Aufklärung. Es sei an eine Beobachtung von Morgenroth und Ginsberg erinnert, wonach Erythrocyten unter gewissen Bedingungen in vitro Optochin fixieren und (an die Corneazellen) wieder abzugeben vermögen. Ferner sei auf die Versuche Lippmanns an aleukocytären Tieren hingewiesen (Zeitschr. f. Immunitätsf., im Druck),

wonach vielleicht die weißen Blutkörperchen bei der Optochinwirkung in vivo eine Rolle spielen.

III. Versuche mit Formaldehydpräparaten.

Wie unsere Versuche mit Salvarsan gezeigt haben, läßt sich von diesem Mittel einige Stunden nach der Injektion noch ein relativ großer Bruchteil im Serum nachweisen. Daß das schon eine außerordentliche Leistung der neuen Chemotherapeutika ist, geht wohl am besten aus einem Vergleich mit anderen Antiseptika hervor. Bereits oben wiesen wir auf das ganz abweichende Verhalten des Collargols hin. Wir haben nun eine Anzahl von Versuchen mit Formaldehyd, das nach Angaben von Uhland, die aber von Willich nicht bestätigt wurden, gegen experimentelle Milzbrandinfektion bei Kaninchen wirksam sein sollte, sowie mit Rhodaform[1]) (Hexa-Methylen-Tetramin-Rhodanat), das nach Angabe des Herstellers im Blut und in der Galle Typhusbacillen abtöten soll, gemacht. Letzteres ist anscheinend das gleiche Präparat, das bereits Marxer bei typhöser Gallenblasenentzündung eines Hundes versuchte.

Tabelle II.

Entwicklungshemmung von Typhusbacillen in vitro durch Zusatz von Rhodaform, Urotropin und Formaldehyd in den angegebenen Verdünnungen zu je 2 ccm Bouillon bzw. Kaninchenserum (8 Tage alt und 2 Stunden bei 56° erhitzt).

Einsaat: je $^1/_{100}$ Tropfen einer Aufschwemmung von einer Oese 24-stündiger Agarkultur Typhus 151 in 1 ccm Bouillon.

Ausstriche nach 1 Stunde mit je einer Oese auf Drigalski-Agar ergaben aus allen Röhrchen Typhuskolonien. Beobachtung der Röhrchen nach 24 Stunden Bebrütung bei 37°.

Verdünnung = 1:		1000	3000	10 000	30 000	100 000	300 000	1 Mill.	3 Mill.	Kontr.
Rhodaform	Bouillon	0	0	+	++	++	.	.	.	++
	Serum	0	fast 0	+	+	+	.	.	.	+
Urotropin	Bouillon	±	++	++	++	++	.	.	.	++
	Serum	±	+	+	+	+	.	.	.	+
Formaldehyd	Bouillon	0	0	0	0	0	+	+	+	+
	Serum	0	0	0	0	0	+	+	+	+

1) Hergestellt von dem Chemischen und Bakteriotherapeutischen Institut Dr. K. H. Schmitz, Breslau.

Bei unseren vitro-Versuchen mit Typhusbacillen [1]) (Tab. II) zeigten Formaldehyd und Rhodaform im Serum eine ebenso starke Entwicklungshemmung wie in Bouillon, während Urotropin, wie bekannt, nur in saurem Medium wirkte (Tab. III).

Tabelle III.

Entwicklungshemmung von Typhusbacillen in vitro durch Zusatz von Rhodaform, Urotropin und Formaldehyd in den angegebenen Verdünnungen zu je 2 ccm Bouillon, der nach Neutralisation 0,036 Proz. freie Salzsäure zugefügt worden ist.

Einsaat: je $^{1}/_{100}$ Tropfen einer Aufschwemmung von einer Oese einer 24-stündigen Agarkultur von Typhus 151 in 1 ccm Bouillon.

Verdünnung 1:	1000	5000	10 000	30 000	100 000	300 000	1 Mill.	3 Mill.	Kontr.
Rhodaform	0	0	0	+	+	+	+	.	+
Urotropin	0	0	0	±	+	+	+	+	+
Formaldehyd	0	0	0	0	0	±	+	.	+

Wir haben nun in Analogie unserer Salvarsanversuche eine Reihe von Untersuchungen über den Verbleib des Formaldehyds im Blute angestellt. Vorversuche ergaben, daß dasselbe mittels der Phloroglucin-Kalilaugeprobe bis zur Verdünnung von 1:150000 und mit der Fuchsinschwefligsäureprobe bis zu 1:1 000 000 im Serum nachzuweisen ist. Die Versuchstiere bekamen durchweg 0,026 g Formaldehyd pro 1 kg intravenös in 1 prom. Lösung langsam injiziert. Es gelang uns nun niemals, selbst wenn wir das Blut schon 5 Minuten nach der Injektion entnahmen, auch nur eine Spur des Formaldehyds nachzuweisen.

Seit langem sind eine Reihe von Formaldehydpräparaten als gute Harndesinfizienzien bekannt. Das von Nikolaier in den Arzeneischatz eingeführte Urotropin soll erst im sauren Harn seine Formaldehydkomponente abspalten, was durch unsere unten erwähnten Versuche bestätigt wird.

Was nun die Heilwirkung des Rhodaforms auf typhusinfizierte Kaninchen betrifft, so ergibt sich aus den in Tabelle IV

1) Bei diesen und den folgenden Versuchen wandten wir Typhusbacillen an, die im inaktivierten Serum und Citratblut von Kaninchen zu wachsen fähig waren (Stamm Woiken).

Tabelle IV.

Heilungsversuch von mit Typhusbacillen infizierten Kaninchen

durch intravenöse Injektion von Rhodaform in 1-proz. Lösung. Die Tiere 1, 2, 3, 7, 11, 12 wurden mit je 1 Oese, No. 4, 5, 9, 10 mit je $^3/_4$ Oese, No. 6 und 8 mit je $1^3/_4$ Oese einer 24-stündigen Agarkultur Typhus Woiken intravenös am Ohr infiziert. No. 13 bekam ebenso 1 Oese Typhus Grätz.

No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Rhodaform ? Stunden p. infect. pro 1 kg	1 Std. 0,42	1 Std. 0,42	1 Std. 0,42	1 Std. 0,42	1 Std. 0,42	$1^1/_2$ Std. 0,42	24 Std. 0,42	K.	K.	K.	K.	K.	K.
Typhusbacillen im Blut p. infect. 3—4 Std.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	+	+	+
Typhusbacillen im Blut p. infect. 24 Std.	.	.	.	.	.	.	+	+	+	0	+	0	++
Typhusbacillen in der Leber 24 Std. p. infect.	.	.	.	.	.	.	.	+	∞	∞	+	0	.
Typhusbacillen in der Galle 24 Std. p. infect.	.	.	.	.	.	.	.	0	0	∞	0	+	30 Std. ++
Typhusbacillen im Blut 2—3 Std. nach der Rhodaform-Injektion	0	+	0	0	+	.	0	.	.	.	.	.	.
Typhusbacillen im Blut 24 Std. nach der Rhodaform-Injektion	.	.	+	+	0	0	0	.	.	.	.	.	.
Typhusbacillen in der Leber 24 Std. dgl.	0	.	+	+	0	+	0	.	.	.	.	.	.
Typhusbacillen in der Galle 24 Std. dgl.	0	.	0	∞	0	0	++	.	.	.	.	.	.

No. 1—7 mit Rhodaform behandelt, No. 8—13 Kontrolltiere.

zusammengestellten Versuchen kein deutlicher Erfolg im Vergleich mit den Kontrollen, speziell keine sichere Sterilisation der Galle.

Dem entsprachen auch die vitro-Versuche: Citratblut und Galle von Kaninchen zeigten 10 Minuten bis 7 Stunden nach intravenöser Injektion von Rhodaform im Vergleich zu den Kontrollen keine deutlich verstärkte Wirkung auf Typhusbacillen, ebenso die nach 7 Stunden entnommene Galle eines Hundes. Dagegen wirkte der Urin stets stark bakterizid[1]).

Zusammenfassung.

Bei intravenös mit Salvarsan behandelten Menschen, Kaninchen, Meerschweinchen, Pferden konnte nach 1 bis 2 Stunden in jedem Fall, bei Kaninchen fast stets auch nach 24 Stunden ein erheblicher Bruchteil des injizierten Salvarsans im Serum nachgewiesen werden.

Optochin verschwindet schneller aus dem Serum, doch gelang der Nachweis beim Meerschweinchen, nicht aber beim Kaninchen, bis zu 2 Stunden nach intravenöser Einspritzung. Dem scheint eine mangelhafte Wirkung in vivo bei letzterer Tierart zu entsprechen.

Die zelligen Blutelemente vermögen in gewissem Grade Optochin zu fixieren und wieder abzugeben.

Formaldehyd und „Rhodaform" ließen sich kurz nach intravenöser Injektion im Blut nicht mehr nachweisen, ebensowenig trat letzteres Präparat nach intravenöser Einspritzung bei Kaninchen und einem Hunde in wirksamer Menge in der Galle auf.

---

1) In einer nach Abschluß dieser Arbeit erschienenen Mitteilung berichtet Schmitz (Med. Klinik, 1914, No. 31, p. 1314) über einige Versuche mit Rhodaform. Danach wirkte dasselbe, in Kaninchengalle zu 0,3 Proz. gelöst, in vitro abtötend auf Typhusbacillen. Bei einem Hunde konnte 7 Stunden nach intravenöser Einspritzung des Präparats in der Galle eine Konzentration von 0,31 Proz. Rhodaform (nach einer Methode von Romijn) chemisch nachgewiesen werden, bei einem Kaninchen eine solche von 0,21 Proz.

Die angewandte Versuchsanordnung bestätigt nicht nur, wie wichtig für chemotherapeutische Stoffe eine möglichst geringe Organotropie ist (Ehrlich), sondern sie vermag auch gelegentlich einen Hinweis bezüglich der zweckmäßigsten Art der Applikation eines Mittels zu geben und die Ursachen der ungleichen Wirksamkeit eines Mittels bei verschiedenen Tierarten teilweise aufzuklären.

Literaturverzeichnis.

Abelin, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak., Bd. 75.
— Münch. med. Wochenschr., 1912.
Castelli, Zeitschr. f. Chemotherapie, Bd. 1, 1912, Heft 2.
Cohn, Centralbl. f. Bakt., Bd. 32, 1902.
Gonder, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 15, p. 257.
Igersheimer und Röthmann, Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. 59, p. 256.
Lippmann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 24 (im Druck).
Lockemann, 5. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, Dresden 1911.
Marxer, Zeitschr. f. Chemotherapie, Bd. 2.
Mayrhofer, Zur Kenntnis der Salvarsantherapie. Dissertation Heidelberg, 1914.
Moldovan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21.
Morgenroth und Ginsberg, Zeitschr. f. prakt. Augenheilk., 1913.
Roos, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 15, 1912, p. 487.
Stühmer, Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 14 u. 23.
Swift and Ellis, Journ. of exp. Med., Vol. 18, p. 435.
Uhland, Centralbl. f. Bakt., Bd. 57, No. 2.
Ullmann, Wiener klin. Wochenschr., 1913, Heft 5/6; Deutsche med. Wochenschr., 1913, p. 283 (Referat).
Willich, Centralbl. f. Bakt., Bd. 71, 1913, p. 327.
Wright, Lancet, Dezember 1912.

[Aus dem Kgl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch" zu Berlin (Direktor: Geh. Ober-Medizinalrat Prof. Dr. Löffler; Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Neufeld).]

Weitere Untersuchungen über die Wirkung chemotherapeutischer Mittel in vitro.

Von Dr. **Oscar Schiemann**,
Assistenten am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Oktober 1914.)

Im Anschluß an die von mir mit Ishiwara veröffentlichten Versuche werden im nachfolgenden Untersuchungen mitgeteilt, die angestellt wurden, um die abtötende und entwicklungshemmende Wirkung von Salvarsan und Optochin (Aethylhydrokuprein) in Blut und Serum verschiedener Tierarten zu vergleichen und in ihren Einzelheiten weiter zu klären.

Diese Art, die Wirkung von chemischen Stoffen in vivo und in vitro im einzelnen zu vergleichen, führt uns auf die Gesichtspunkte zurück, unter denen vor mehr als 20 Jahren Koch und Behring sich mit chemotherapeutischen Problemen zu beschäftigen begannen, die dann aber lange Jahre hindurch ganz außer Betracht geblieben sind. Die ersten chemotherapeutischen Versuche hat Koch mit Sublimat gegen Milzbrand an Meerschweinchen in der Weise angestellt, daß er in den Versuchstieren eine Konzentration der Säfte an Sublimat zu schaffen suchte, die der für Entwicklungshemmung in Bouillon (1 : 600000) gefundenen entsprach. „Wenn der Tierkörper", berechnet Koch, „in seiner Gesamtheit als Nährsubstrat betrachtet und angenommen wird, daß das eingeführte Sublimat sich gleichmäßig in demselben, also auf 615 g verteilte, dann hätte unter allen Umständen die Entwicklung der Milzbrandbacillen in abgeschwächtem Maße vor sich gehen müssen. Will man aber annehmen, daß das Sublimat hauptsächlich noch im Blutstrom sich befand, dann hätten über-

haupt keine Milzbrandbacillen in demselben entstehen können. Weder das eine noch das andere ist eingetreten, und man muß also annehmen, daß entweder das Sublimat im Körper sich nicht gleichmäßig verteilt oder daß es zu schnell wieder ausgeschieden wird, um lange genug in der erforderlichen Konzentration zu bleiben, oder auch, daß es im Tierkörper Verwandlungen erleidet, die seine antiseptische Wirkung hindern oder aufheben."

Behring hat dann die Kochschen Untersuchungen weitergeführt und eine Erklärung für die Differenzen in vitro und in vivo gebracht; er wies nach, daß die Körperflüssigkeiten, speziell Serum, sich auch extravaskulär anders verhalten, wie die gebräuchlichen Nährflüssigkeiten. Er fordert, daß die Giftigkeit des auf seine Tauglichkeit für eine „innere Desinfektion" zu prüfenden Mittels mit der Zahl verglichen werde, die angibt, in welchen Konzentrationen sie, in Blutserum gelöst, eine Entwicklung der betreffenden Bakterien verhindert. Er fand in Rinderserum erst bei einem Sublimatgehalt 1 : 15000 Entwicklungshemmung von Milzbrandbacillen. Die Giftigkeit des Sublimats für Versuchstiere (Meerschweinchen und Kaninchen) beträgt nach Behring im Mittel 1 : 90000 des Körpergewichts. Danach ist das Sublimat für Tiere 6mal giftiger als für Milzbrandbacillen, nach Behrings Ausdrucksweise ist die „relative Giftigkeit" des Sublimats in diesem Falle gleich 6. Behring, der eine große Zahl von chemischen Präparaten systematisch prüfte, zieht das Fazit aus seinen Untersuchungen in folgendem Satz: „Es darf fast als ein Gesetz betrachtet werden, daß die lebenden tierischen und menschlichen Körperzellen um ein Mehrfaches empfindlicher sind gegenüber den Desinfektionsmitteln als die Bakterien, so daß, ehe die Bakterien durch ein Desinfektionsmittel abgetötet oder am Wachstum im Blute und in den Organen verhindert werden, der infizierte Tierkörper schon vorher an diesem Mittel zugrunde geht." Die relative Giftigkeit von Kreolin = 4 ist die günstigste, die er mitteilt. Behring bemerkt dabei, daß elektiv wirkende Mittel, wie das Malachitgrün, bessere Aussichten für eine Wirksamkeit im Tierkörper eröffnen.

Uebrigens hat Behring neuerdings sogar die Chininwirkung gegen Malaria durch einen indirekten Mechanismus

erklärt. Und ebenso urteilt er über die Wirkung des Salvarsans gegen Syphilis. Beide Mittel sind nach ihm nicht als ätiologische Spezifika anzuerkennen; sie sollen vielmehr, wenn sie auch die Virulenz der Parasiten im Tierkörper schwächen, doch hauptsächlich als „Adjuvans bei der Naturheilung durch Antikörper“ wirken (Bekämpfung der Infektionskrankheiten, 1912, p. 68 und 69).

Ehrlich hält dagegen die direkte parasitizide Wirkung seiner chemotherapeutischen Präparate für das Wesentliche und den „ictus immunisatorius“, der auch ihm eine erwünschte Nebenwirkung ist, erst für die Folge des massenhaften Zugrundegehens der Parasiten nach der Anwendung der Heilmittel.

Durch die Untersuchungen von Roos, Whright, Neufeld, Schiemann, Ishiwara ist erwiesen, daß die neuen chemotherapeutischen Mittel in vivo antiseptisch wirken und die Forderung Behrings bezüglich der „relativen Giftigkeit“ erfüllen. Eine andere wichtige Frage, die über die Forderung Behrings hinausgeht, nämlich die nach der Organotropie der Mittel, ist kürzlich in den Arbeiten von Mayrhofer und von Boecker gesondert behandelt worden (Zeitschr. f. Immunitätsf., im Druck); es hat sich gezeigt, daß auch sie durch Versuche in vitro wesentlich gefördert werden kann.

Bezüglich der Versuchsanordnung sei folgendes bemerkt.

Nachdem sich in den Versuchen von Ishiwara und mir ein oft nicht unbeträchtlicher Unterschied zwischen aktivem und inaktivem Serum herausgestellt hatte, habe ich später kein inaktives Serum mehr verwandt. Gegen eine Mitwirkung der bakteriziden Kraft der Sera, die übrigens gegenüber den septikämischen Bakterien in der Hauptsache auf thermostabile Stoffe zurückgeführt wird, glaubte ich durch eine große Einsaat genügenden Ausgleich schaffen zu können. Zum Vergleich habe ich zugleich mit dem Abtötungsversuch in Serum stets einen in Bouillon ausgeführt und in beiden Versuchen stets die Entwicklungshemmung mitnotiert. Die Versuche sollten eben auch einen Anhalt dafür bieten, in welchem Maße sich aus der Beobachtung der Entwicklungshemmung auf den Grad der Keimverminderung schließen läßt, und ob der von mir und Ishiwara zunächst für Milzbrandbacillen erhobene Befund, daß die Grenzen der Konzentration für Abtötung und für Entwicklungshemmung (gerechnet nach dem Röhrchen, das makroskopisch klar bleibt) einander sehr nahestehen, auch für die Wirkung des Salvarsans auf Rotlauf und des Optochins auf Pneumokokken gilt.

Versuche mit Salvarsan und Milzbrandbacillen.

Versuch 1.

Abtötung und Entwicklunghemmung von Milzbrandbacillen in den Medien Bouillon und Hammelserum.

Das Hammelserum ist 9 Tage alt, nicht inaktiviert. Salvarsanlösung frisch bereitet. Volumen: je 2 ccm. Einsaat: 1 Tropfen unverdünnte sporenfreie Bouillonkultur.

Aussaat: 1 Tropfen in 10 ccm flüssigem Agar. Zählung der Agarplatten nach 48 Stunden.

Versuch 1.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
A. In Bouillon.							
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0	0	0	0 (mikr. spärlich)	+ kleine Flocke	++	++
Abtötung nach ½ Std.	30	7	50	100	800	900	. 300
„ 4 „	0	0	0	1	30	3000	2400
„ 24 „	0	0	0	0	5000	∞	∞

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 400 Keime.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
B. In Hammelserum.							
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0	0	0	+	++	++	++
Abtötung nach ½ Std.	400	1200	1400	2 000	1500	1000	1000
„ 4 „	0	16	1200	20 000	∞	∞	∞
„ 24 „	0	0	0	20 000	∞	∞	∞

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 900 Keime.

Versuch 2.

Abtötung und Entwicklungshemmung von Milzbrandbacillen in den Medien Bouillon, Rinderserum und Hammelserum.

Beide Sera sind 48 Stunden alt, aktiv, filtriert. Die Salvarsanlösung ist frisch bereitet. Volumen, Einsaat und Aussaat wie in Versuch 1.

Versuch 2.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
A. In Bouillon.							
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0	0	0	0 (mikr. 0)	+ kleine Flocke	++	++
Abtötung nach ½ Std.	19	24	82	460	740	840	950
„ 4 „	0	0	0	0	32	468	1000
„ 24 „	0	0	0	0	∞	∞	∞
Kontrolle sofort, nach Schütteln: 1240 Keime.							
B. In Rinderserum.							
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0	0	0	0 (mikr. ±)	++	++	++
Abtötung nach ½ Std.	81	860	1400	2300	1 300	1 850	2 200
„ 4 „	0	1	300	5200	12 500	15 500	12 000
„ 24 „	0	0	0	53	∞	∞	∞
Kontrolle sofort, nach Schütteln: 1800 Keime.							
C. In Hammelserum.							
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0	0	0 (mikr. vereinzelt)	0 (mikr. ±)	++	++	++
Abtötung nach ½ Std.	70	640	1700	1 300	2 200	3 200	2 300
„ 4 „	0	0	170	10 800	13 000	14 000	32 000
„ 24 „	0	0	0	150	∞	∞	∞
Kontrolle sofort, nach Schütteln: 1200 Keime.							

Beide Versuche ergeben übereinstimmend, daß die bakterizide Wirkung des Salvarsans auf Milzbrandbacillen in Rinder- und Hammelserum langsamer erfolgt und nicht so hohe Grade erreicht wie in Bouillon. Hierbei ist in Betracht zu ziehen, daß nach Schiemann und Ishiwara (Tabelle V) Rinderserum für Salvarsan ein ungünstigeres Medium ist als z. B. Kaninchenserum. In der Tat ergibt der Ausfall der folgenden Versuche (3—6) mit Rotlaufbacillen, daß die Wirkung des Salvarsans in Kaninchenserum der in Bouillon zum mindesten gleichkommt. Ferner ergibt sich aus Versuch 1 und 2, daß in Bouillon und in Serum die für Entwicklungshemmung

einerseits und für Abtötung andererseits erhobenen Grenzzahlen sich nahezu decken. Stellen wir die Berechnung der wirksamen Konzentration an, so müßte bei einem Hammel oder Rind, die von Milzbrand geheilt werden sollen, 4 Stunden lang eine Konzentration der Körpersäfte von etwa 1:30000 Salvarsan erzielt werden, oder länger (bis 24 Stunden) eine solche von 1:100000, wenn wir annehmen, daß eine abtötende Wirkung erforderlich ist. Legen wir jedoch die Entwicklungshemmung der Berechnung zugrunde, so müßte eine Konzentration von 1:300000 den Körpersäften erteilt werden. In Wirklichkeit wird natürlich im Blut nicht eine gleichmäßige, sondern eine allmählich sinkende Konzentration vorhanden sein.

Anhaltspunkte bezüglich der Schnelligkeit des Absinkens der Konzentration können wir aus den Untersuchungen von Mayrhofer an salvarsanbehandelten Patienten entnehmen. Dieser Autor konnte 24 Stunden nach einer Salvarsaninjektion (intravenös) im 10-fach verdünnten Blutserum keine bakterizide Wirkung auf Milzbrandbacillen mehr feststellen, während er nach wiederholten Salvarsaninjektionen starke Bakterizidie nach 24 und zum Teil auch noch nach 48 Stunden fand. So erhielt ein Patient (Versuch 5) an zwei aufeinander folgenden Tagen im ganzen 1,2 Neosalvarsan = 0,8 Salvarsan. Das bedeutet, wenn wir annehmen, daß alles Salvarsan im Blute blieb und das Körpergewicht = 70 kg, die Blutmenge = $^1/_{15}$ davon in Rechnung setzen, eine Konzentration von etwa 1:6000; da Mayrhofer das Serum 10-fach mit Bouillon verdünnte, so wäre eine Konzentration 1:60000 entstanden. Da wir annehmen können, daß die Bakterizidie des Salvarsans in einem so verdünnten Serum so hoch ist wie in Bouillon, 1:1000000 (nach den hierüber gemachten Experimenten Mayrhofers liegt die Grenze der bakteriziden Wirksamkeit des Neosalvarsans im Menschenserum zwischen 1:100000 und 1:1000000, während die des Altsalvarsans bis 1:1000000 geht), so wäre in diesem Falle noch wenigstens $^1/_{16}$ der injizierten Menge vorhanden gewesen. Ueber die Schnelligkeit der Ausscheidung des Salvarsans nach intravenöser Injektion beim Menschen und verschiedenen Tierarten gibt die Arbeit von Boecker nähere Auskunft.

Ueber die Frage, ob ein chemisches Heilmittel durch Entwicklungshemmung oder durch Abtötung der Bakterien wirken muß, hat Koch sich in seinem Vortrag über bakteriologische Forschung (1890) geäußert: „Es ist nicht nötig, wie irrigerweise angenommen wird, daß die Bakterien im Körper

getötet werden müssen; sondern es genügt, ihr Wachstum, ihre Vermehrung zu verhindern, um sie für den Körper unschädlich zu machen.“ Die Feststellung der tatsächlich vorliegenden Verhältnisse ist unserer Ansicht nach recht schwierig. Unsere Versuche haben uns aber zu der Anschauung geführt, daß Entwicklungshemmung und Abtötung, so zweckmäßig die Unterscheidung der Begriffe auch für die Praxis sein mag, im Grunde nicht prinzipiell verschiedene Vorgänge sind, und daß diejenigen Stoffe, die stark entwicklungshemmend, aber relativ schwach bakterientötend wirken, nichts anderes als langsam wirkende Desinfizienzien sind.

Versuche mit Salvarsan und Rotlaufbacillen.

Versuch 3—6.

Entwicklungshemmung und Abtötung von Rotlaufbacillen durch Salvarsan in Bouillon und in aktivem Kaninchenserum.

Die Prüfung der Abtötung erfolgte durch Entnahme je eines Tropfens nach den angegebenen Zeiträumen und Ausgießen desselben in Platten mit 10 ccm Agar und 1 ccm Serum. Auszählung der Platten nach 48 Stunden.

Versuch 3 und 4 wurden am selben Tage und mit derselben Kultur angestellt, ebenso Versuch 5 und 6. Die Salvarsanlösung war frisch bereitet.

Versuch 3.

Medium: 24-stündiges, filtriertes, aktives Kaninchenserum.

Volumen: 2 ccm.

Einsaat: 1 Tropfen unverdünnter 24-stündiger Bouillonkultur, Stamm Bierbaum.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0	0	0	0	+	+	+
Abtötung nach 1/2 „	70 000	110 000	110 000	150 000	150 000	150 000	200 000
„ 3 „	100 000	100 000	200 000	300 000	.	300 000	400 000
„ 24 „	0	300	2 500	80 000	∞	∞	∞

Kontrolle sofort, siehe Versuch 4.

Versuch 4.

Medium: Bouillon, die übrige Versuchsanordnung wie in Versuch 3.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Stunden	0	0	0 (mikr. ±)	+	+	+	+
Abtötung							
nach $\frac{1}{2}$ Std.	100 000	100 000	100 000	100 000	100 000	85 000	85 000
„ 3 „	100 000	100 000	70—100 000	150 000	200 000	300 000	300 000
„ 24 „	35 000	11 000	80 000	30 000	∞	∞	∞

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 150 000 Keime.

Versuch 5 in Serum.

Medium: filtriertes, aktives, am Tage des Versuches entnommenes Kaninchenserum.

Volumen: 2 ccm.

Einsaat: 1 Tropfen unverdünnter, 24-stündiger Bouillonkultur, Stamm Bierbaum.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Stunden	0 (mikr. ±)	0 (mikr. ±)	0 (mikr. ±)	0 (mikr. ±)	+ (mikr. +)	+	+
Abtötung							
nach 30 Min.	150 000	150 000	150 000	150 000	200 000	200 000	200 000
„ 3 Std.	175 000	160 000	80 000	125 000	160 000	200 000	200 000
„ 24 „	100—200	100—200	100—200	600—1000	ca. 100 000	ca. 200 000	ca. 200 000

Kontrolle sofort, nach Schütteln, ergibt 150—200 000 Keime.

Versuch 6 in Bouillon.

Am gleichen Tage wie Versuch 5 mit derselben Kultur und bei derselben Versuchsanordnung angestellt.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Stunden	0	0	0	0	0 (mikr. ±)	+	+
Abtötung							
nach 30 Min.	150 000	120 000	150 000	150 000	200 000	200 000	200 000
„ 3 Std.	150 000	75 000	150 000	120 000	150 000	95 000	130 000
„ 24 „	2—3000	5 000	6 000	10 000	10 000	200 000	200 000

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 150—200 000 Keime.

Die Versuche 3—6 zeigen, daß Salvarsan, in für den Tierkörper in Betracht kommenden Konzentrationen, nur eine unvollständige bakterizide Wirkung gegen Rotlaufbacillen entfaltet, wenigstens bei der von uns gewählten relativ großen Einsaat. Selbst die Konzentration 1:10000 hat nur einmal — und zwar in Serum, nicht in Bouillon — sämtliche Keime in 24 Stunden abgetötet (Versuch 3). Immerhin ist die Keimverminderung in den Grenzen, die durch Beobachtung der Entwicklungshemmung festgestellt wurden, eine sehr beträchtliche. Die von uns geübte Methode, die Entwicklungshemmung festzustellen, gibt also ein gutes Bild auch von der bakteriziden Kraft der geprüften Substanz. Im einzelnen ergeben die gefundenen Zahlen, daß sich das Salvarsan in den Körpersäften während eines Zeitraumes von über 3 Stunden in der Konzentration 1:10000 befinden müßte, um die Rotlaufbacillen abzutöten; nehmen wir dagegen an, daß die Keimverminderung, die sich schon in einem einfachen Entwicklungshemmungsversuch feststellen läßt, zur Heilwirkung genügt, so würde noch etwa eine Konzentration 1:300000 therapeutisch wirksam sein.

Die schlechte bakterizide Wirksamkeit des Salvarsans gegen Rotlaufbacillen ist bereits von anderer Seite festgestellt worden. Hänssler fand für Neosalvarsan, daß es in Bouillon in 4 Stunden bei 37° erst in der Verdünnung 1:340 die Bacillen tötete, in 24 Stunden in der Verdünnung 1:6800; 1:17000 ergab „Wachstum", 1:34000 unendliches Wachstum. Nach diesem Autor, der eine größere Zahl von Bakterienarten auf ihre Empfindlichkeit gegen Neosalvarsan — wobei immer die Bakterizidie der Maßstab war — prüfte, kommen an zweiter Stelle, nach den äußerst empfindlichen Milzbrandbacillen, die Diphtheriebacillen und Streptokokken, erst der nächsten Gruppe werden die Rotlaufbacillen eingereiht, zugleich mit Streptococcus mucosus, Ruhr-Shiga, Bacterium typhi und Bacterium pyocyaneus. Milzbrandbacillen waren in 4 Stunden bei der Konzentration 1:34000 abgetötet, in der Verdünnung 1:85000 wuchsen noch 4 Keime (aus dem ganzen Röhrchen!), während Diphtheriebacillen und Streptokokken nach 4-stündiger Einwirkung der Konzentration 1:17000 noch über 100 Keime hatten, nach 24 Stunden bei der Konzentration 1:34000 abge-

tötet waren; höhere Verdünnungen wurden für diese Bakterien nicht erprobt.

Beim Vergleich dieser Zahlen mit den unseren ist zu berücksichtigen, daß Häussler nur die Abtötung, nicht die Entwicklungshemmung festgestellt hat, und daß er nicht, wie wir, einen Tropfen, sondern die ganzen Röhrchen zu Platten ausgoß. Ferner, daß Neosalvarsan benutzt wurde, das, wie Schiemann und Ishiwara und Mayrhofer fanden, im Reagenzglas schwächer als Salvarsan wirkt.

In betreff der Wirkung unserer therapeutischen Präparate in extravaskulärem Blut im Vergleich zum Serum war von mir und Ishiwara gesagt worden, daß die Wirksamkeit hier nicht oder nicht in erheblichem Grade herabgesetzt wird. Es waren jedoch noch ergänzende Versuche in Aussicht gestellt worden.

Für die Wirkung des Salvarsans gegenüber Rotlauf in Kaninchenblut kann ich die früheren Versuche nur bestätigen.

Versuch 7.

Entwicklungshemmung und Abtötung von Rotlaufbacillen durch Salvarsan in den Medien: Serum, Citratblut und defibriniertes Blut von Kaninchen.

Beobachtung auf Entwicklungshemmung nach 24 Stunden bei 37°.

In Klammern: Bakterizide Wirkung, festgestellt durch Oberflächenausstrich von je einer Oese auf einer Loeffler-Platte.

Einsaat: $^1/_{100}$ Tropfen 24-stündiger Bouillonkultur.

Volumen: je 2 ccm.

Salvarsanlösung frisch bereitet.

Defibriniertes und Citratblut (1 Proz.) stammen vom selben Tier, das am Versuchstage entblutet ist. Das Serum stammt von einem anderen Kaninchen und ist filtriert, aktiv, 48 Stunden alt.

(++) bedeutet sehr reichliches, (+) reichliches Wachstum.

Versuch 7.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Defibriniertes Blut	0 (20 Kol.)	0 (45)	0 (55)	0 (++)	++	++	++
Citratblut	0 (12)	0 (14)	0 (10)	0 (+)	++	++	++
Serum	0 (0)	0 (4 Kol.	0 (14)	0 (17)	++	++	++

In bezug auf die Technik sei bemerkt, daß in diesem Versuche keine Färbung (die am besten im feuchten Präparat geschieht) angewandt worden ist, wodurch die fehlerhafte Beurteilung der Entwicklungshemmung in defibriniertem und Citratblut zu erklären ist (in der Verdünnung 1 : 300 000). Die Rotlaufbacillen sind schon im Serum nicht leicht zu finden, weil sie agglutiniert wachsen und das Serum ungetrübt lassen, wenn sie nicht in sehr großen Mengen vorhanden sind; im Blut adhärieren sie den Blutkörperchen in einer Weise, die sie im hängenden Tropfen vollkommen unsichtbar macht.

Es ergibt sich aus diesem Versuche eine etwas geringere Wirksamkeit des Salvarsans im Blut gegenüber der im Serum. Die daraus zu schließende hemmende Wirkung der Blutkörperchen ist aber eine sehr geringe, so daß immerhin, wenn man im Blute des lebenden Körpers dasselbe Verhalten annimmt, eine Konzentration 1 : 100 000 eine bedeutende antiseptische Wirkung entfalten kann.

Versuche mit Optochin (Aethylhydrokuprein) und Pneumokokken.

Ich gehe nun zu den Versuchen mit Optochin über, die nach derselben Versuchsordnung in Bouillon und Serum angestellt wurden. Außerdem wurden einige Versuche über das Verhalten dieses Antiseptikums im Blut verschiedener Tierarten gemacht. Bei den Versuchen in Bouillon und in Serum ergab sich zunächst — worauf schon in der vorigen Arbeit hingewiesen wurde —, daß die Abtötungsversuche viel unregelmäßiger verlaufen, als Entwicklungshemmungsversuche; besonders war dies der Fall, wenn die zur Aussaat verwendete Kultur nicht auf der Höhe ihrer Entwicklungsfähigkeit stand. Ein Beispiel hierfür ist Versuch 12, bei dem die schlechte Lebensfähigkeit aus dem Verhalten der Kontrollen hervorgeht. Hiermit hängt es vielleicht zusammen, daß in den Versuchen mit Milzbrand und Rotlauf sich nicht so starke Unregelmäßigkeiten zeigen, wie bei den Pneumokokken, die ja in unseren Nährböden ganz besonders kurzlebig und empfindlich sind.

Eine Erklärung hierfür bieten vielleicht die wichtigen Versuche von Moldovan über die Wirkung des Atoxyls auf Trypanosomen. Der Autor schließt aus seinen Beobachtungen, daß nur solche Trypano-

somen, die in lebhafter Entwicklung begriffen sind, von Atoxyl beeinflußt werden, nicht aber solche, die durch ungünstige Lebensbedingungen in ihrer Entwicklung gehemmt sind. Ein ähnliches Verhalten fand Moldovan auch für die Wirkung von Salvarsan und von Menschenserum auf Trypanosomen.

Bei den vergleichenden Versuchen mit Serum und Blut von Menschen, Meerschweinchen und Kaninchen machte sich die nicht unbeträchtliche entwicklungshemmende und bakterizide Wirkung, die das Serum und in höherem Maße das Blut der beiden ersteren Arten — im Gegensatz zum Kaninchenserum und -blut — auf Pneumokokken ausübt (Dold), störend bemerkbar; Versuche mit kleiner Einsaat lassen sich in diesen Fällen überhaupt nicht anstellen. Nun hätte man erwarten können, daß in derartigen Medien, die bereits an sich auf Pneumokokken hemmend wirken, die Optochinwirkung besonders deutlich sein würde. Es war aber häufig das Umgekehrte der Fall; es scheint, als ob auch hier das Mittel auf lebenskräftige Bakterien besser einwirkt, als auf solche, die in ihrer Lebensfähigkeit beeinträchtigt sind.

Wir geben in folgendem einige Versuche in Bouillon, Kaninchenserum und Kaninchenblut wieder, aus denen hervorgeht, daß das Optochin unter geeigneten Bedingungen auch in diesen Medien nicht nur entwicklungshemmende, sondern auch stark bakterizide Wirkungen auf Pneumokokken entfaltet, daß jedoch die Abtötung recht langsam verläuft. Es sei aber nochmals bemerkt, daß eine Anzahl ähnlicher bakterizider Versuche, ebenso wie die Versuche mit Serum und Blut von Menschen und Meerschweinchen erheblich ungünstiger und unregelmäßiger verliefen.

Versuch 8—11 (am selben Tage angestellt).

Entwicklungshemmung und Abtötung von Pneumokokken in Serum und in Bouillon.

Volumen: 2 ccm.

Einsaat: 1 Tropfen bzw. $^1/_{100}$ Tropfen 24-stündiger Serumbouillonkultur.

Aussaat: 1 Tropfen aus jedem Röhrchen wird mit 1 ccm Rinderserum und 10 ccm Agar zu Platten gegossen. Zählung der Platten nach 48 Stunden bei 37°.

Versuch 8 und 9 in Kaninchenserum (48 Stunden alt, aktiv).

Versuch 8.

Einsaat: 1 Tropfen.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0 (mikr. 0)	0 (mikr. 0)	0 (mikr. spärlich)	0 (mikr. ±)	+	+	+
Abtötung nach 30 Min.	46 000	51 000	38 000	42 000	40 000	35 000	40 000
„ $3^1/_2$ Std.	19 000	21 000	23 000	28 000	38 000	170 000	400 000
„ 28 „	0	0	0	19 000	500 000	140 000	100 000

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 35 000 Keime.

Versuch 9.

Einsaat: $^1/_{100}$ Tropfen.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0 (mikr. 0)	0 (mikr. 0)	0 (mikr. 0)	0 (mikr. spärlich)	± (mikr. zahlr.)	+	+
Abtötung nach 30 Min.	900	900	750	700	1000	750	1 000
„ $3^1/_2$ Std.	400	600	750	650	800	1 900	20 000
„ 28 „	0	0	0	0	∞	200 000	300 000

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 900 Keime.

Versuch 10 und 11 in Bouillon.

Versuch 10.

Einsaat: 1 Tropfen.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0 (mikr. 0)	0 (mikr. 0)	± (mikr. zahlreich)	±	+	+	+
Abtötung nach 30 Min.	22 000	20 000	41 000	60 000	46 000	28 000	38 000
„ $3^1/_2$ Std.	26 000	55 000	45 000	27 000	38 000	55 000	200 000
„ 28 „	900	700	∞	500 000	0 [1])	150 000	0 [1])

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 25 000 Keime.

1) Wie aus der eingetretenen Trübung (vgl. die Beobachtung der Entwicklungshemmung) hervorgeht, sind die kurzlebigen Pneumokokken bereits zugrunde gegangen. Für Pneumokokken ist das Volumen von 2 ccm offenbar zu klein.

Versuch 11.

Einsaat: $^1/_{100}$ Tropfen.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0 (mikr. 0)	0 (mikr. 0)	0 (mikr. 0)	0 (mikr. 0)	+	+	+
Abtötung nach 30 Min.	700	650	800	700	1000	700	900
„ $3^1/_2$ Std.	600	800	600	700	750	1 900	650
„ 28 „	0	0	0	1300	∞	500 000	200 000

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 600 Keime.

Versuch 12.

Entwicklungshemmung und Abtötung von Pneumokokken in Bouillon.

Versuch 12.

Versuchsanordnung wie vorher. Einsaat: 1 Tropfen.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0 (mikr. sehr spärlich)	0 (mikr. sehr spärlich)	0 (mikr. ±)	0 (mikr. spärlich)	0 (mikr. spärlich)	+	+
Abtötung nach 30 Min.	0	22	8	3	.	.	0
„ 4 Std.	25	3	6	5	1	1	1
„ 24 „	0	6000	0	6000	2000	>200 000	.

Kontrolle sofort, nach dem Schütteln: 3 Kolonien (!)

Ein am selben Tage mit $^1/_{100}$ Tropfen der Kultur (24-stündige Serumbouillonkultur) in gleicher Weise angestellter Versuch ergab nach 24 Stunden auch in der Kontrolle kein Wachstum.

Versuch 13, 14 und 15 (am selben Tage angestellt).

Entwicklungshemmung und Abtötung von Pneumokokken durch Optochin in Citratblut, defibriniertem Blut und aktivem Serum vom Kaninchen.

Blut und Serum stammen vom selben Tiere, sie sind 24 Stunden alt.

Einsaat: 1 Tropfen 24-stündiger Serumbouillonkultur.

Aussaat: 1 Tropfen. Zählung der Platten nach 48 Stunden.

Versuch 13 in Citratblut.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0	0	0	0	0 (mikrosk. spärlich, degener.)	+	+
Abtötung nach 4 Std.	20	20	1100	1200	2400	40 000	500 000
„ 24 „	.	0	0	0	0	〉500 000	38 000

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 33 600.

Versuch 14 in defibriniertem Blut.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0	0	0	+	+	+	+
Abtötung nach 4 Std.	600	4600	21200	61 400	500 000	500 000	∞
„ 24 „	.	0	500	ca. 500 000	.	.	ca. 500 000

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 44 200.

Versuch 15 in Serum.

	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	1 : 3 Mill.	Kontrolle
Entwicklungshemmung nach 24 Std.	0	0	0	0	+	+	+
Abtötung nach 4 Std.	20	1900	5800	27900	130 000	500 000	ca. 500 000
„ 24 „	.	0	2	85	ca. 500 000	ca. 500 000	ca. 500 000

Kontrolle sofort, nach Schütteln: 48 300.

Aus den Versuchen über die Wirkung des Optochins im Serum und Blut von Menschen und Meerschweinchen seien hier nur folgende Ergebnisse hervorgehoben.

Während in Kaninchenblut die bakterizide Wirkung des Optochins eine bedeutende war, wuchsen aus Meerschweinchencitratblut und defibriniertem Blut, sowie in menschlichem defibriniertem und Hirudinblut bei Aussaat von einem Tropfen noch in der Konzentration 1:30000 Optochin nach 24 Stunden Keime aus (beim Menschenblut 35 Keime, beim Meerschweinchenblut etwas über 1000 bei einer Einsaat, die 60000 Keime in einem Tropfen ergab).

Ziehen wir nur die mit defibriniertem Blut erhaltenen Zahlen zum Vergleich der Wirkung des Optochins im Blut verschiedener Tierarten heran, so finden wir übereinstimmend in dem Blut aller 3 untersuchten Species Wachstum bei der Konzentration 1:300000, Entwicklungshemmung bzw. Keimverminderung bei 1:100000 Optochin. Dabei fand sich bei der Konzentration 1:100000 in Meerschweinchenblut die volle Einsaat wieder, in Menschenblut etwa $^1/_{10}$, in Kaninchenblut nur $^1/_{100}$ der Einsaat; vollständige Abtötung wurde nur in defibriniertem Kaninchenblut bei der Konzentration 1:30000 Optochin nachgewiesen.

Versuche mit Salvarsan an Pest- und Rotzbacillen.

Ich habe in ähnlicher Weise die antiseptische Wirkung von Salvarsan gegenüber Pest- und Rotzbacillen untersucht. Bei beiden Infektionen ist das Salvarsan bereits angewandt worden. In betreff der Rotzbacillen teilte bereits Ehrlich im Jahre 1911 auf der 83. Naturforscherversammlung in Karlsruhe mit, daß es russischen Autoren gelungen sei, Kaninchen, die an chronischem Rotz erkrankt waren, durch einmalige Injektion von Salvarsan zu heilen; es sind dann aus Rußland eine ganze Reihe von günstigen Beobachtungen über die Wirkung des Salvarsans bei Rotz veröffentlicht worden, während Miessner bei seinen Tierexperimenten zu negativen Ergebnissen gelangte.

In betreff der Bubonenpest teilte Aumann mit, daß er bei dem Versuch, dieselbe mit Salvarsan zu behandeln, vorübergehende Besserung, besonders des subjektiven Befindens der Patienten, erzielt hätte, bei Untersuchung des Serums der Patienten konnte er wohl eine Steigerung der

Agglutininbildung, aber keine nennenswerte Bakterizidie feststellen.

Bei meinen Versuchen in vitro habe ich mich auf Feststellung der Entwicklungshemmung in Bouillon beschränkt.

Versuch 16.

Entwicklungshemmung von Pestbacillen in Bouillon durch Salvarsan und Optochin.

Volumen: 2 ccm. Einsaat: 1 Oese 24-stündiger Bouillonkultur.
Beobachtungszeit: 24 Stunden bei 37°.
Altsalvarsanlösung frisch bereitet.

Versuch 16.

	1 : 1000	1 : 3000	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	Kontrolle
Salvarsan	0	0	0	0	+	+	+	+
Optochin	0	+	+	+	+	+	+	+

Versuch 17.

Entwicklungshemmung von Rotzbacillen in Bouillon durch Salvarsan und Optochin.

Volumen: 2 ccm. Einsaat: 1 Oese 24-stündiger Bouillonkultur.
Beobachtung: nach 24 und 72 Stunden bei 37°; letzterer Befund in Klammern.
Altsalvarsanlösung frisch bereitet.

Versuch 17.

	1 : 1000	1 : 3000	1 : 10 000	1 : 30 000	1 : 100 000	1 : 300 000	1 : 1 Mill.	Kontrollen (4)
Salvarsan	0	0	0	0	0 (0)	0 (+)	+	+
Optochin	0	0	+	+	+	.	.	+

Es erweist sich, daß Salvarsan gegen Rotzbacillen eine sehr erhebliche entwicklungshemmende Kraft entfaltet, gegenüber Pestbacillen dagegen sehr viel schwächer wirkt; eine chemotherapeutische

Anwendung dürfte hiernach nur den erstgenannten Erregern gegenüber in Frage kommen. Das Optochin erwies sich beiden Erregern gegenüber als sehr schwach wirksam, so daß sich keine Aussicht auf eine Wirkung im Tierkörper bietet.

In neuester Zeit ist aber noch eine andere Bakterieninfektion außer der Pneumokokkeninfektion als durch das Optochin beeinflußbar erkannt worden. Izar teilt mit, daß dieses Chininderivat in vitro und in vivo eine ausgezeichnete Wirkung gegenüber dem Erreger des Maltafiebers besitzt. In Reagenzglasversuchen (Einsaat 2—3 Tropfen einer unverdünnten Bouillonkultur) fand Izar die Entwicklung des Micrococcus Brucei aufgehoben bei einer Konzentration 1 : 128 000, Wachstum bei 1 : 256 000, während die Grenzen gegenüber Choleravibrionen 1 : 8000 —, 1 : 16 000 +, gegenüber Bacillus coli 1 : 4000 —, 1 : 8000 + waren. Auch in Tierversuchen mit Ratten und Mäusen hatte der Autor günstige Resultate: 4 subkutane Injektionen von 0,25 ccm einer 0,25-proz. öligen Lösung der Base in einem Intervall von 2 Stunden, oder einmalige Injektion von 0,25 ccm einer 2-proz. Lösung der Base heilte Mäuse bei sofort nach der Infektion einsetzender Behandlung; d. h. $^1/_3$—$^1/_4$ der Dosis tolerata bei mehrmaliger, $^1/_2$—$^2/_3$ der Dosis tolerata bei einmaliger Behandlung. Dasselbe gilt für Ratten. Selbst 48 Stunden nach der Infektion wurden noch 90 Proz. der Tiere durch Applikation von $^1/_2$—$^2/_3$ der Dosis tolerata bei einmaliger oder $^1/_3$—$^1/_4$ bei 3—4 Injektionen gerettet. Dabei war die Infektionsdosis (4 Oesen intraperitoneal) stets genügend, um sämtliche Kontrollen zu töten.

Anhang.

Anhangsweise seien noch einige Versuche über die Wirkung des Chinins bei einer Bakterieninfektion mitgeteilt. Hallenberger teilte mit, daß er bei einer Hühnercholeraepizootie in Togo dieselbe durch Anwendung von intramuskulären Chinininjektionen in wirksamer Weise bekämpfen konnte. Selbst von zwei ihm zur Diagnosenstellung zugesandten moribunden Hühnern konnte er eines durch Injektion von 0,5 Chin. bimur. intramuskulär retten.

Wahrscheinlich hat Hallenberger die käuflichen, 0,5 ccm einer 10-proz. Lösung von Chininum bimuriaticum enthaltenden Gläschen benutzt, denn nach meinen Erfahrungen vertragen Hühner nicht 0,5 g pro Kilo. Dagegen wurden die Dosen 0,05 und 0,1 g pro Kilo intramuskulär öfters vertragen, während andere Hühner bei der gleichen Dosis zugrunde gingen. Bei Kaninchen, die ich zur Prüfung der Wirksamkeit intravenöser Injektionen heranzog, schwankte die geringste toxische Dosis ebenfalls

zwischen 0,05 und 0,1 g pro Kilo (Gewicht der Kaninchen 2—3 kg). Es gelang aber bei Anwendung verdünnter Lösung und mehrfacher 2—3-maliger Injektion in Zwischenräumen von 1—2 Stunden, auch 0,2 g pro Kilo zu injizieren. Zum Vergleich sei angeführt, daß Schmiedeberg (Grundriß der Pharmakologie, 1906, p. 216) mitteilt, daß Kaninchen durch Injektion von 0,05—0,1 g (milchsauren) Chinins in das Blut vergiftet werden.

Vor der Prüfung im Tierversuch, die, wie gleich vorweggenommen werden soll, vollständig negativ verlief, wurden Versuche in vitro angestellt. Es ergab sich, daß Hühnercholerabacillen — Laboratoriumsstamm, sehr virulent für Kaninchen — in Bouillon sehr wenig durch Chin. bim. beeinflußt wurden (1 : 3000 nach 24 Stunden —, nach 48 Stunden +); viel größer war die entwicklungshemmende Wirkung gegenüber Pneumokokken (1 : 30000 —), was der von Morgenroth im Tierversuch gefundenen ganz schwachen Heilwirkung entspricht. In Kaninchenserum erfolgte gegenüber Bouillon keine Verschlechterung der antiseptischen Wirkung des Chinins. Friedländer-Bacillen verhielten sich wie Hühnercholerabacillen und Streptococcus Aronson wurde ebenso gut wie Pneumokokken beeinflußt. Es war somit nicht zu erwarten, daß die Substanz im Tierversuch eine Wirkung entfalten würde. Tatsächlich starben Kaninchen, die mit 0,05—0,2 g (letztere Dosis in 2—3-maliger Injektion gegeben) intravenös pro Kilo behandelt wurden, auch bei ganz geringer Infektion ($^1/_{10000000}$ Oese 24-stündiger Agarkultur intravenös) gleichzeitig mit den Kontrollen. Die Behandlung erfolgte stets gleich nach der Infektion.

Für die Prüfung an Hühnern eignete sich unser Laboratoriumsstamm nicht, da er meist nur eine chronische Infektion hervorrief, ich wählte daher einen Stamm, den ich frisch aus einer in der Nachbarschaft des Instituts ausgebrochenen Epizootie isoliert hatte. Die Virulenzprüfung an Hühnern ergab: $^1/_{10000}$ Oese intramuskulär tötete mit Sicherheit in 24 Stunden, $^1/_{1000000}$ Oese noch in 4 Tagen.

Mit diesem Stamm wurden 20 Hühner mit je $^1/_{1000}$ Oese intramuskulär infiziert, 10 von ihnen erhielten 0,05 und die 10 anderen 0,1 g Chin. bimur. intramuskulär (in 10- bzw. 5-proz. Lösung) in die entgegengesetzte Brustseite.

4 Hühner wurden mit $^{1}/_{10000}$ Oese intramuskulär als Kontrollen infiziert, und je 2 Hühner erhielten 0,05 bzw. 0,1 Chinin intramuskulär, ohne infiziert zu sein. Von den mit 0,05 Chinin (ohne Infektion) gespritzten Hühnern starb eines während der Injektion, die übrigen Giftkontrollen überlebten (Beobachtung: 1 Woche). Von den Kontrollen ohne Chininbehandlung starben 2 24 Stunden, 2 erst 48 Stunden nach der Infektion. Von den mit 0,05 Chin. bimur. behandelten starb eines 24 Stunden, die übrigen 9 erst 48 Stunden nach der Infektion; von den mit 0,1 Chinin behandelten starben 3 nach 24 Stunden, 5 nach 48 Stunden und 2 nach 72 Stunden.

Somit läßt die größere Dosis vielleicht eine gewisse Verzögerung der Infektion erkennen.

Zusammenfassung.

Salvarsan und Optochin wirken in Bouillon wie in Serum und Blut verschiedener Tierarten nicht nur stark entwicklungshemmend, sondern auch bakterizid auf die von ihnen elektiv beeinflußten Bakterienarten; jedoch verlaufen die Versuche über Entwicklungshemmung regelmäßiger und sind zur Orientierung über die elektive Wirkung derartiger Mittel weit zweckmäßiger als Abtötungsversuche. Die Abtötung verläuft relativ langsam und ist beim Salvarsan gegen Milzbrand viel stärker als gegenüber Rotlaufbacillen, während sich bezüglich der Entwicklungshemmung kein entsprechender Unterschied zeigt.

Bei Benutzung von Serum und Blut verschiedener Species ergeben sich oft recht beträchtliche Verschiedenheiten.

In Vitroversuchen an Rotz- und Pestbacillen wurden die ersteren stark von Salvarsan beeinflußt.

Die in Tierversuchen gegenüber allen beeinflußbaren Infektionen als heilend erkannten Dosen der chemotherapeutischen Mittel scheinen einer Konzentration im Blut zu entsprechen, die nicht nur zur Entwicklungshemmung, sondern auch zur Abtötung genügen würde. Der zahlenmäßige Vergleich der Verhältnisse in vivo und in vitro wird jedoch

einerseits durch die langsame Wirkung der Präparate, andererseits durch das baldige Absinken der Konzentration im strömenden Blut (vgl. die Versuche von Boecker) erschwert.

Eine Heilung der Hühnercholerainfektion durch Chinin, wie sie von Hallenberger beschrieben worden ist, trat in unseren Versuchen an Hühnern und Kaninchen nicht zutage; dem entsprach das Verhalten in vitro.

Literaturverzeichnis.

Aumann, Deutsche med. Wochenschr., 1912, No. 46.
Behring, Bekämpfung der Infektionskrankheiten, 1912.
Boecker, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 24, 1915.
Häussler, Ueber die Wirkung von Arsensalzen auf Bakterien, speziell auf Milzbrandbacillen. Diss. Heidelberg, 1914.
Hallenberger, Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg., 1913, p. 466.
Izar, No. 21 di Patologica del 15 Nov. 1913.
Koch, „Ueber Desinfektion". Ges. Werke, Bd. 1, p. 287. Ebenda p. 659 Vortrag „Ueber bakteriologische Forschung".
Mayrhofer, Zur Kenntnis der Salvarsantherapie. Diss. Heidelberg, 1914.
Miessner, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 64 (Festschrift für Löffler. Jena 1912).
Moldovan, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 481.
Neufeld und Schiemann, Mikrobiolog. Vereinigung 7. Tagung 1913, Ref. Centralbl. f. Bakt., Bd. 57, Beiheft p. 183.
Schiemann und Ishiwara, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 77, 1914, p. 49.

[Aus Statens Seruminstitut, Kopenhagen (Direktor: Dr. Thorvald Madsen).]

Die Wassermannsche Reaktion bei Kaninchen nach Behandlung mit Extrakt aus luetischer Leber.

Von Dr. **Hjalmar Eiken.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. November 1914.)

In der Deutsch. med. Wochenschr., 1910, No. 34, veröffentlichten Citron und Munk eine Abhandlung, die lehrte, daß Kaninchen durch intravenöse Injektion eines aus luetischer Leber hergestellten wässerigen Extraktes derart beeinflußt wurden, daß ihr Serum positive Wassermannsche Reaktion ergab.

Nachgeprüft wurden diese Angaben bis 1914 von Blumenthal[1]) und später von Prausnitz und Margarethe Stern[2]). Alle drei Autoren haben versucht, die Wassermannsche Reaktion so weit abzuschwächen, daß eine Spontanreaktion ausgeschlossen ist. Die beiden letzten gingen in dieser Beziehung am weitesten, was ganz natürlich ist, da das erwähnte Streben dies mit sich bringen muß, je mehr nicht behandelte Kontrollkaninchen untersucht werden. Bei Anwendung von $^1/_4$ Serumdosis und $^1/_4$ Extraktdosis wurden unter 173 Kaninchensera 3 gefunden, die starke Hämolysenhemmung zeigten, bei $^1/_8$ Extraktdosis dagegen nur 1 hemmendes Serum unter 91. Die Verfasser schließen hieraus, daß bei dieser Versuchsanordnung nur vollkommene Hemmung „brauchbare Resultate“ ergibt. Dies ist aber wohl zu weit gegangen. Kaninchen zeigen unzweifelhaft spontane Reaktion. Wie von Hellens (Zeitschr. f. Immunitätsf., 1913) nachgewiesen, tritt diese jedoch viel seltener auf, wenn alkoholisches Extrakt aus normalem Menschenherzen als Antigen verwendet wird, als bei Verwendung alkoholischen Extraktes von luetischer Leber. Ferner

1) Berlin. klin. Wochenschr., 1911, p. 1462.
2) Centralbl. f. Bakt., Bd. 69, 1913, p. 545.

werden im folgenden Beispiele dafür gegeben werden, daß die Reaktion bei Kaninchen auftritt, welche Anzeichen von Krankheit haben, so daß auch durch diese Auslese der Versuchstiere diesem Umstand einigermaßen begegnet werden kann. Auch ist das Verfahren der Verfasser in seiner Theorie wie auch in der Realität nicht ohne wesentliche Nachteile. Durch die Vergröberung der Probe entziehen sie sich alle aus den schwachen und mittelstarken Reaktionen zu gewinnenden Resultate und Folgerungen. Dies ist wahrscheinlich der Grund, warum Blumenthal nach Injektion alkoholischen Extraktes von luetischer Leber keine Reaktion findet, und sicher ist es die Ursache der zahlreichen negativen Fälle bei Prausnitz und Stern, ebenso wie deren Kontrollfälle keine anderen Schlüsse zulassen als den, daß die untersuchten Stoffe eine sehr starke Wassermannsche Reaktion hervorzurufen nicht imstande sind. Tatsächlich wissen die Verfasser nicht, ob etwas anderes vorliegt als ein geringerer quantitativer (latenter) Unterschied, so daß sie, streng genommen, schwerlich auf Grund eigener Versuche von einer charakteristischen Reaktion auf das Extrakt von luetischen Organen zu reden das Recht haben.

Auch ist die Kritik, welche die Verfasser in ihrer im übrigen großen und vortrefflichen Arbeit an Citron und Munk üben, kaum hinreichend begründet. Man scheint in viel zu hohem Maße übersehen zu haben, daß die zufälligen Spontanreaktionen der Kaninchen niemals so regelmäßig verlaufen könnten, wie in dem vorliegenden Falle. Wenn die Tiere bei einer einfachen oder wiederholten Behandlung konstant und gleichmäßig reagieren, so kann dies nicht auf Zufall beruhen, und das einzige in dieser Beziehung Erforderliche war, streng genommen, die Versuche von Citron und Munk überhaupt nachzuprüfen und die Zahl der Versuche etwas zu vermehren.

Die bisher erzielten Resultate sind folgende: Citron und Munk haben nachgewiesen, daß intravenöse Injektionen von aus luetischer Leber hergestelltem wässerigen Extrakt bei Kaninchen positive Wassermannsche Reaktion hervorrufen, daß dagegen andere Extrakte nichtluetischer Organe diese Reaktion nicht ergeben. Diese Resultate wurden durch

Versuche von Blumenthal sowie von Prausnitz und Margarethe Stern bestätigt und teilweise erweitert. Die beiden letzten haben unter anderem insbesondere nachgewiesen, daß auch alkoholisches Extrakt luetischer Leber positive Wassermannsche Reaktion hervorruft (wurde von Blumenthal geleugnet).

Meine eigenen Versuche wurden rein orientierend angelegt, lassen aber doch einige Schlüsse und Vermutungen zu.

Die Wassermannschen Reaktionen wurden im Seruminstitut ausgeführt zugleich mit der Bearbeitung der Sera von Patienten und nach dem üblichen Verfahren des Instituts (inaktiviertes Serum), mit gleichen Mengen der verschiedenen Stoffe wie sonst, und also auch mit quantitativer Messung der Stärke der Reaktion, indem absteigende Mengen des Serums zur Anwendung kamen (0,2—0,1—0,05 ccm); vgl. Oluf Thomsen in Kraus und Levaditi, Handbuch der Immunitätsforschung, 2. Aufl.

Ein direkter Vergleich mit den oben erwähnten Untersuchungen stößt auf die Schwierigkeit, daß bei diesen alkoholisches Meerschweinchenherzextrakt, bzw. alkoholisches Extrakt aus luetischer Leber als Antigen verwendet wurde, während hier Extrakt aus normalem Menschenherzen angewandt worden ist. Das Extrakt von luetischer Leber wurde in der Weise hergestellt, daß zwei Lebern (A und B), stark gefroren, zerstoßen und pulverisiert, in 4 Gewichtsteilen physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, in der Maschine geschüttelt und durch Watte filtriert wurden. Beim Lagern setzt sich ein gewisser Bodensatz ab, der, wie bei allen Organextrakten, sich im Laufe der Zeit vermehrt. Die beiden Extrakte sind natürlich nicht gleich. Das zuletzt bereitete (B) gab viel größeren Bodensatz als A und hat zweifellos weit mehr von den Stoffen in aufgeschwemmtem Zustand enthalten. Es handelt sich also um Extrakt und Aufschwemmung. Durch die Filtrierung wurden alle gröberen Teilchen zurückgehalten, so daß die Flüssigkeit immer mit Leichtigkeit durch eine feine Kanüle hindurchging. Vor dem Gebrauch wurde kräftig geschüttelt. Aufbewahrung im Eiskeller nach Zusatz von Thymol. Beide Lebern entstammten Sektionen und hatten etwas üblen Geruch und Verfärbung an der Oberfläche. Das Extrakt reagiert schwach sauer auf Lackmus.

Bezüglich der übrigen Präparate, die zur Injektion bei Kaninchen gelangten, siehe die Tabelle. Folgendes ist noch hinzuzufügen: Alkoholisches Herzextrakt ist das übliche, oben erwähnte Antigen bei Wassermannscher Reaktion. Der Alkohol wurde bei 37° abgedämpft und das Residuum in der gleichen Menge physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, dann in der Maschine zu einer gleichmäßigen Emulsion geschüttelt. Alkoholisches Extrakt von einem wässerigen Extrakt von luetischer Leber ist in der Weise hergestellt, daß man 100 ccm des letzteren bei 37° und bei künstlicher Ventilation bis zu fast völligem Austrocknen verdampfen ließ, worauf ca. 200 ccm 99—100-proz. Alkohol hinzugesetzt

wurden. Diese Aufschwemmung wurde gut umgeschüttelt und hat 2 bis 3 Tage bei 37° gestanden, worauf die oben gelagerte, gleichmäßig opaleszierende Flüssigkeit abgegossen wurde und Filtrierung stattfand. Der Alkohol wird wieder bei 37° abgedampft, das Residuum in 100 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zu gleichmäßiger Emulsion geschüttelt.

Indem ich auf die Tabellen verweise, will ich hier kurz hervorheben, zu welchen Schlüssen oder Vermutungen die Versuche Anlaß bieten können.

Unter 9 nicht behandelten Tieren reagierten 3 positiv, davon 2 sehr schwach. Beide starben im Verlauf von kurzer Zeit, das relativ am stärksten reagierende am schnellsten. Das dritte Tier — No. 7 — wird kassiert und nicht verwendet. Man kann hier das schon bekannte (vgl. Hellens) eigentümliche Verhältnis beobachten, daß die Serummenge innerhalb gewisser Grenzen ohne Einfluß auf den Grad der Reaktion ist (40, 40, 40) — noch ein Anlaß mehr, um sich nicht mit einer Probe mit verminderter Serummenge zu begnügen, indem man, um womöglich überhaupt bis zu einer negativen Reaktion zu gelangen, außerordentlich weit absteigen muß, und in einem Fall wie dem vorliegenden einer Spontanreaktion bei $^1/_4$ Serumdosis ebenso hilflos gegenüberstehen wird wie einer solchen bei voller. Diesen Reaktionstypus werden wir auch sonst in den Versuchen antreffen, aber mehr oder weniger ausgeprägt; vgl. No. 2, No. 3 30. V.: 70, 70, 70 —, 70, 80, 80. No. 1 11. VIII.: 20, 40, 100 und 13. III. 1914: 20, 20, 40. Von diesen unterscheiden sich deutlich bei dem angewandten quantitativen Verfahren die Reaktionen, die einer Injektion von Extrakt aus luetischer Leber entspringen, indem diese den bei luetisch infizierten Menschen üblichen Typus aufweisen — ein weiteres, nicht unwesentliches Anzeichen von der Spezifität der Reaktion.

Von den untersuchten Kaninchen scheint No. 3 nicht dazu zu bringen zu sein, positiv zu reagieren, so daß die Kontrollproben mit diesem Tier wertlos sind. Einen Grund dieser mangelnden Reagibilität habe ich nicht nachweisen können.

Injektion wässerigen luetischen Extraktes: Die No. 1, 2, 3, 8 und 9 wurden zusammen 9mal untersucht

und zeigen in dem Versuch gleiche Regelmäßigkeit; man vergleiche besonders No. 1, bei welcher mit langen Zwischenräumen ganz oder teilweise negativer Perioden 4mal luetisches Extrakt reinjiziert wurde, und die jedesmal in gleicher Weise reagierte (Extrakt A und B). No. 1 und 2 zeigen in dem ersten Versuch schöne Uebereinstimmung, indem sie die Titer 0, 0, 10 und 0, 0, 14 erreichen. Das Extrakt B ist, wie oben erwähnt, sicher quantitativ stärker als A. Wie man sieht, tritt hier 7 Tage nach der letzten Injektion ÷ Wassermannsche Reaktion auf, aber schon am 10. Tage ist positive Reaktion vorhanden, und am 12. Tag erreicht sie ihr Maximum. Von spätestens dem 19. Tage ab sinkt sie wieder bis gegen 0, durch einen Reaktionstypus, der eben besprochen wurde (20, 40, 100) und in gleicher Weise auch sonst auftritt. Ein anderer Typus zeigt sich entweder unter fortgesetzten Seruminjektionen oder ebenfalls unter abnehmender Reaktion nach dem Aussetzen der Serumbehandlung, indem eine starke Eigenhemmung auftritt. Bisweilen schwindet diese und man sieht dann, daß die Reagibilität tatsächlich andauernd besteht, vielleicht sogar kräftig ist (vgl. No. 1, 2 und 8).

Die Reagibilität schwindet nach wenigen Injektionen ziemlich schnell, bei mit Intervallen fortgesetzten Injektionen kann sie jedoch länger bleiben, so daß No. 1 nach der letzten Injektion am 10. I. 1914 noch am 23. IV. eine kräftige positive Wassermannsche Reaktion zeigte.

Die Entstehung der Wassermannschen Reaktion kann man sich auf verschiedene Weise denken. Am einfachsten wäre, daß das injizierte Antigen selbst der direkte Erzeuger wäre, analog der Tatsache, daß eine Vermehrung der Antigenmenge bei der Wassermannschen Reaktion überhaupt eine nichtspezifische Reaktion hervorrufen kann. Dies wird jedoch durch die Versuche mit No. 1 und 2 widerlegt, bei denen das Serum $^1/_2$ Stunde nach der Injektion sowie während der folgenden Tage untersucht wurde (Versuch No. 1 und No. 2 19.—30. V.). Das Ergebnis dieser Reihe ist wohl am einfachsten so zu verstehen: Mit 0,2 ccm Serum ausgeführt, gibt die Untersuchung nicht die niedrigsten Grade der Reaktion. In allen Versuchen ist zu vermuten, daß, wo nach 3 oder mehr Injektionen positive Reaktion auftritt, sie schon vorher

latent vorhanden war, und im Einklang mit dieser wahrscheinlichen Vermutung finden wir hier bei No. 1 und No. 2 ein gleichmäßiges Ansteigen je nach der gegebenen Einzeldosis. Es ist möglich, daß es sich hierbei um die Bildung einer Art von Antikörper handelt oder vielleicht um das Entstehen einer Albuminlipoidverbindung, die direkt oder indirekt die Reaktion bedingt. Gegen die letztere Vermutung spricht jedoch der Umstand, daß das mutmaßlich stärkere Extrakt B beim Kaninchen 1 später Reaktion gibt als A.

Der Versuch mit durch das Chamberland-Filter filtriertem Extrakt (Kaninchen No. 5 und 6) läßt vermuten, daß der wirksame Stoff im wesentlichen als eine Suspension auftritt, wenn auch vielleicht in geringerem Maße in Lösung, insofern etwas durch das Filter zu gehen scheint.

Alkoholisches Extrakt aus normalem Menschenherzen (Wassermann-Antigen) ruft keine positive Reaktion hervor bei den Kaninchen No. 1 und No. 9, welche beide auf wässeriges Extrakt von luetischer Leber reagieren. Bei No. 1 ist zwar eine ganz schwache Reaktion vorhanden, dies kann aber leicht eine zufällige „spontane Reaktion“ sein. Andererseits steht auch dem nichts im Wege, daß selbst ein nichtspezifisches Antigen — wie alkoholisches Herzextrakt es ist — bei diesem Kaninchen, das vielleicht infolge der zahlreichen Injektionen wässerigen luetischen Extraktes ungewöhnlich leicht reagiert, eine Reaktion auslösen kann. Auch die „spontane“ Reaktion der Kaninchen muß ja ein auslösendes Moment haben.

Wie schon erwähnt, bekam Blumenthal bei alkoholischem Extrakt aus luetischer Leber negative Wassermannsche Reaktion, Prausnitz und Stern dagegen positive Wassermannsche Reaktion. Hierauf bezieht sich der Versuch mit No. 1 am 16. VIII. bis 15. IX. Die Technik hat in diesem Falle den Vorzug, daß das alkoholische Extrakt aus dem wässerigen hergestellt ist, wodurch ein direkterer Vergleich als bei den Versuchen von Prausnitz und Stern ermöglicht wird, bei denen das wässerige und das alkoholische Extrakt jedes für sich hergestellt wurden, so daß die Möglichkeit vorliegt, daß es sich um zwei ganz verschiedene „Antigene“ handelt. Aus meinem Versuch ergibt sich, daß in dem wässerigen Extrakt ein Stoff vorhanden ist, der sich mit

Alkohol extrahieren läßt und kräftige Wassermannsche Reaktion ergibt. In Verbindung mit dem Chamberland-Versuch bestätigt dies die Vermutung, daß das Antigen in dem wässerigen Extrakt ein Lipoid ist. Eine Injektion des Residuums der Alkoholextraktion ist nicht vorgenommen worden, da eine negative Reaktion doch nicht viel bedeuten würde, indem anzunehmen ist, daß die Behandlung die übrigen Stoffe verändern und destruieren würde.

So wenig wie frühere Autoren bekam ich positive Wassermannsche Reaktion bei Injektion eines Extraktes von nichtluetischer Kinderleber.

Schließlich bemerke ich, daß die wässerigen Extrakte ihre Eigenschaften sehr lange erhalten. Das Extrakt B wurde am 1. VII. 1913 hergestellt und gibt noch am 16. VI. 1914 kräftige Reaktion.

Es ist nicht ohne Bedeutung, darauf hinzuweisen, daß neben den kräftigen Wassermann-Reaktionen die Hermann-Perutzsche Reaktion negativ war. Nur ein einziges Mal (No. 1 am 24. XI.) war eine Andeutung eines positiven Ergebnisses dieser Probe vorhanden. Es scheint, daß Kaninchen nicht auf diesem Wege dahin gebracht werden können, positive Hermann-Perutzsche Reaktion zu geben, und hierin tritt ein Wesensunterschied zwischen den beiden Reaktionen zutage.

Tabellen.

Reaktion der Kaninchen zu Beginn der Versuche:

No. 1: ÷ Wa.	No. 4: 45, 100	No. 7: 40, 40, 40
„ 2: ÷ Wa.	„ 5: ÷ Wa.	„ 8: 60, 100
„ 3: ÷ Wa.	„ 6: ÷ Wa.	„ 9: ÷ Wa.

Injektion von Aufschwemmung und Extrakt von Hepar lueticum.

No. 1.	14. IV. 13	2 ccm Hepar lueticum A intrav.	Wa.R.
	20. IV.	dgl.	
	26. IV.	dgl.	
	2. V.	. . . .	0, 0, 10
	13. V.	. . . .	50, 100
	19. V.	2 ccm intravenös	
	19. V.	1/2 Stunde nach der Injektion . .	50, 100
	20. V.	. . . .	30, 100
	22. V.	. . . .	25, 100
	26. V.	. . . .	0, 40, 100
	30. V.	. . . .	÷ Wa.
	(30. VI.	. . . .	70, 100)

	16. VII.	2 ccm Hepar lueticum B intrav.	Wa.R.
	21. VII.	dgl.	
	28. VII.	dgl.	
	4. VIII.		÷ Wa.
	7. VIII.		0, 60, 100
	9. VIII.		0, 0, 40
	11. VIII.		20, 40, 100
	16. VIII.		÷ Wa.
	(15. IX.		0, 30, 100)
	(17. X.		40, 100)
	17. X.	2 ccm Hepar lueticum B	
	24. X.	dgl.	
	31. X.	dgl.	
	6. XI.		0, 0, 20
	20. XI.		eigenhemmend
	24. XI.		0, 40. 100
	15. XII.		÷ Wa.
	23. XII.	2 ccm Hepar lueticum B	
	28. XII.	dgl.	
	3. I. 14	dgl.	eigenhemmend
	10. I.		eigenhemmend, aber doch schwach + im Vergleich zur Kontr.
	10. II.		0, 0, 100
	13. III.		20, 20, 40
	23. IV.		0, 30, 100
No. 2.	14. IV.	2 ccm Hepar lueticum A	
	20. IV.	dgl.	
	26. IV.	dgl.	
	2. V.		0, 0, 14
	13. V.		35, 100
	19. V.	2 ccm Hepar lueticum A	
	19. V.	$^1/_2$ Stunde nach der Injektion	÷ Wa.
	20. V.		÷ Wa.
	22. V.		÷ Wa.
	26. V.		35, 100
	30. V.		70, 70, 70
	(30. VI.		÷ Wa.)
No. 3.	16. VII.	2 ccm Hepar lueticum B	
	21. VII.	dgl.	
	28. VII.	dgl.	
	4. VIII.		÷ Wa.
	7. VIII.		÷ Wa.
	9. VIII.		÷ Wa.
	11. VIII.		÷ Wa.
	16. VIII.		÷ Wa.
No. 8.	20. XI. 13	2 ccm Hepar lueticum B	
	24. XI.		÷ Wa.
	26. XI.	2 ccm Hepar lueticum B	
	2. XII.	dgl.	÷ Wa.
	8. XII.	dgl.	÷ Wa.
	15. XII.	dgl.	÷ Wa.
	23. XII.	dgl.	0, 40, 100
	28. XII.	dgl.	eigenhemmend
	3. I.	dgl.	eigenhemmend
	10. I.	dgl.	eigenhemmend
	10. II.		÷ Wa.

			Wa.R.
No. 9.	(1. V. und 29. V.	. . . .	÷ Wa.)
	3. VI.	2 ccm Hepar lueticum B	
	9. VI.	dgl.	
	16. VI.	dgl.	
	22. VI.	. . . .	0, 20, 100

Extrakt von Hepar lueticum B durch Chamberlandfilter filtriert.

26. VII.	No. 5, No. 6	4 ccm intravenös	
2. VIII.		dgl.	
9. VIII.		dgl.	
16. VIII.	No. 5	. . . .	55, 100
	No. 6	. . . .	30, 60, 90 (Kontr. 70)
	No. 6 leidet sehr stark an Ohrmilben, so daß die Ohren stark geschwollen, ödematös sind		
21. VIII.	No. 5	. . . .	40, 100
	No. 6	. . . .	eigenhemmend

Alkoholisches Herzextrakt.

No. 3.	14. IV.	. . . .	÷ Wa.
	26. IV.	2 ccm alkoholisches Herzextrakt	
	2. V.	dgl.	
	8. V.	4 ccm alkoholisches Herzextrakt	
	13. V.	. . . .	÷ Wa.
	19. V.	. . . .	÷ Wa.
	20. V.	. . . .	÷ Wa.
	22. V.	2 ccm alkoh. Herzextrakt, verseift	
	26. V.	. . . .	÷ Wa.
	30. V.	. . . .	÷ Wa. (70, 80, 80)
No. 1.	(15. IX.	. . . .	0, 30, 100)
	29. IX.	2 ccm alkoholisches Herzextrakt	
	4. X.	dgl.	
	10. X.	dgl.	
	17. X.	. . . .	40, 100
No. 5.	(21. VIII.	. . . .	40, 100)
	29. IX.	2 ccm alkoholisches Herzextrakt	
	4. X.	dgl.	
	10. X.	dgl.	
	12. X.	Kaninchen tot	
No. 9.	1. V.	. . . .	÷ Wa.
	7. V.	2 ccm alkoholisches Herzextrakt	
	14. V.	dgl.	
	23. V.	dgl.	
	29. V.	. . . .	÷ Wa.

Alkoholisches Extrakt aus wässerigem Extrakt von Hepar lueticum A und B.

No. 3.	20. VI.	4 ccm Extrakt A	
	26. VI.	dgl.	
	2. VII.	dgl.	
	7. VII.	. . . .	÷ Wa.

			Wa.R.
No. 1.	16. VIII.	. . . .	÷ Wa.
	25. VIII.	2 ccm Extrakt B	
	1. IX.	dgl.	
	8. IX.	dgl.	
	15. IX.	. . . .	0, 30, 100

Extrakt von Leber eines 25-tägigen, an Enteritis gestorbenen Kindes.

No. 1.	30. V.	. . . .	÷ Wa.
No. 2.	30. V.	. . . .	÷ Wa. (70, 70, 70)
No. 1 u. 2	13. VI.	2 ccm Extrakt	
	19. VI.	dgl.	
	24. VI.	dgl.	
	30. VI.	. . . .	No. 1 70, 100 No. 2 ÷ Wa.

Nachtrag.

Nach Abschluß dieser Versuche wollte ich prüfen, ob nach der Injektion des Extraktes bei den reagierenden Tieren eine negative Phase der Reaktionsstärke einträte, was möglich schien, falls es sich um ein wirkliches Antigen und wirklichen Antikörper handelte. Dem Kaninchen No. 10 wurde 3mal in der üblichen Weise das Extrakt B intravenös injiziert. 8 Tage nach der letzten Einspritzung wird Blut entnommen, worauf langsam und mit Zwischenpausen — im Verlauf einer Viertelstunde — 20 ccm Extrakt B eingespritzt werden. Sogleich ist das Kaninchen etwas schwach, erholt sich aber schnell und scheint, abgesehen von rascher Respiration, fast normal, als nach 2 Stunden eine neue Blutprobe entnommen werden soll. Es zeigt sich nun, daß beide Ohren ganz ischämisch sind, so daß auf keine Weise Blut von Venen oder Arterien zu erlangen ist. Gerade als der Versuch aufgegeben werden soll, verfällt das Kaninchen plötzlich in Krämpfe und stirbt (Anaphylaxie). Es wird aus der V. jugularis Blut entnommen.

Ergebnis:

	Serummenge	I. Probe		II. Probe	
			Kontrolle, d. h. ÷ Antigen		Kontrolle
Wa.R. 1. IX.	0,2	40	60	70	70
Wa.R. 3. IX.	0,1, 0,05	0, 40	100	0, 60	100

Bei der Probe II ist also eine unerheblich schwächere Reaktion vorhanden. Am nächsten liegt die Folgerung, daß die letzte Injektion wirkungslos geblieben ist. Merkwürdig ist, daß das Serum nach 2-tägigem Stehen im Eiskeller eine kräftige Reaktion zeigt, während es anfangs sowohl eigenhemmend ist als auch solche Stoffe enthält, die die Wassermannsche Reaktion hemmen.

Zusammenfassung.

Es ergibt sich ganz zweifellos, daß die Injektion wässerigen Extraktes oder besser wässeriger Aufschwemmung von luetischer Leber bei Kaninchen positive Wassermannsche Reaktion zu erzeugen imstande ist, und zwar etwas früher oder später, je nach der Individualität des Extraktes (bzw. des Kaninchens). Die Reaktion schwindet im allgemeinen ziemlich bald, unter gewissen Bedingungen jedoch kann sie monatelang bestehen bleiben. In Verbindung mit Blumenthal, Prausnitz und Margarethe Stern bestätigen diese Beobachtungen die von Citron und Munk veröffentlichten Mitteilungen.

Uebereinstimmend mit Prausnitz und Margarethe Stern gelang es, mit alkoholischem Extrakt aus wässerigem Extrakt luetischer Leber Wassermannsche Reaktion zu erzeugen.

Es gelang nicht, durch Injektion alkoholischen Extraktes von normalem Menschenherzen oder wässerigen Extraktes von nichtluetischer Kinderleber eine Wassermannsche Reaktion hervorzurufen.

Wird das wässerige Extrakt durch das Chamberland-Filter filtriert, so büßt es weitaus den größten Teil seiner Brauchbarkeit als Antigen ein.

Die kräftig reagierenden Kaninchensera ergeben nicht Hermann-Perutzsche Reaktion.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Silberschmidt).]

Weitere Untersuchungen über die Gerinnungsreaktion bei Lues.

Von **L. Hirschfeld** und **R. Klinger.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. November 1914.)

In No. 32, 1914, der Deutsch. med. Wochenschrift und auf dem Kongreß für innere Medizin in Wiesbaden 1914 haben wir über eine Gerinnungsreaktion bei Lues berichtet. Das Prinzip dieser Reaktion beruht auf der Eigenschaft vieler alkoholischer Organextrakte, als Cytozym [1]) zu wirken; luetische Sera zerstören die Gerinnungsaktivität dieser Extrakte, während normale Sera sie nur geringfügig abschwächen.

Die Reaktion wird in der Weise angestellt, daß 0,1 ccm des zu untersuchenden, gut inaktivierten Serums mit 0,1 ccm des in NaCl-Lösung emulgierten Extraktes eine Stunde stehen bleibt; während dieser Zeit findet die Reaktion zwischen Serum und Extrakt statt, wobei der letztere seinen Cytozymcharakter mehr oder weniger einbüßt. Hierauf wird bestimmt, wie viel Cytozym noch im Gemisch vorhanden ist; dies geschieht durch Zusatz von 0,5 ccm Serozymlösung und von 1,0 ccm Ca-haltiger NaCl-Lösung. Man wartet 15 Minuten; falls noch aktives Cytozym vorhanden war, so entsteht inzwischen Thrombin, und zwar um so mehr, je mehr Cytozym erhalten geblieben war. Die gebildete Thrombinmenge wird sodann durch Zusatz von Oxalatplasma nachgewiesen; dasselbe gerinnt um so schneller, je reichlicher Thrombin zugegen ist. Die Empfindlichkeit der Reaktion kann beliebig gesteigert werden, je kleiner die mit dem Serum digerierte Extraktdosis gewählt wird (meist je 0,1 ccm einer Verdünnung 1 : 40, 1 : 120, 1 : 360 des Merckschen Herzextraktes).

---

1) Die Gerinnung beruht bekanntlich auf der Fällung des Fibrinogens des Plasmas durch das Thrombin. An der Entstehung des letzteren sind zwei Substanzen, das Serozym und Cytozym beteiligt, die nur bei Anwesenheit von Ca-Ionen miteinander reagieren. Als Cytozym wirken verschiedene Körper meist lipoider Natur; das Serozym findet sich im Plasma des normalen Blutes und kann in relativ reinem Zustande aus Hammelplasma gewonnen werden. Für alle theoretischen und technischen Einzelheiten sei auf unsere früheren Arbeiten verwiesen (diese Zeitschr., Bd. 20 und 21).

In dieser Arbeit soll über einige weitere Untersuchungen berichtet werden, die wir zur Klärung des Wesens dieser Reaktion unternommen haben. Unsere Problemstellungen gingen von der Tatsache aus, daß sich bei richtiger Einstellung die Gerinnungsreaktion mit der Wassermannschen Reaktion deckt; es war daher zu prüfen, ob diese Uebereinstimmung immer angetroffen würde, oder ob nach gewissen Eingriffen, welchen das Serum ausgesetzt wird, die eine Reaktion in anderer Richtung beeinflußt würde als die andere. Speziell wurde die Bedeutung der Spaltung des Serums in Albumine und Globuline, ferner die Rolle des Zusatzes von destilliertem Wasser und von Suspensionen eingehender untersucht.

I. Spaltung des Serums in Albumine und Globuline.

Die Tatsache, daß das Cytozym mit den Globulinen gefällt wird und dabei an Wirksamkeit zunimmt, während den Albuminen eine hemmende Funktion zukommt (siehe Mitteilung I, Bd. 20 dieser Zeitschr.) — Verhältnisse, wie sie ähnlich für die Komplementbindung durch Friedemann aufgedeckt worden sind — war für uns die erste Veranlassung gewesen, nach einem gerinnungsphysiologischen Ausdruck für gewisse Veränderungen des Serums, speziell bei Lues, zu suchen. Wir haben diese Untersuchungen in dieser Arbeit wieder aufgenommen, wobei jedoch die Versuchsanordnung enger an die Gerinnungsreaktion angepaßt wurde.

Normale und luetische Sera wurden durch Ammonsulfat in Albumine und Globuline gespalten und geprüft, ob die nach Wassermann positiven oder eigenhemmenden Globuline das Cytozym zu zerstören vermögen, gleich den nach Wassermann positiven Seren; ferner wurden die Albumine sowohl allein wie nach Mischung mit den zugehörigen Globulinen in der gleichen Richtung untersucht. Die folgenden Protokolle geben einige der diesbezüglich unternommenen Versuche wieder.

Zum Verständnis der Tabellen sei hier erwähnt, daß die Zahlen die Gerinnungszeiten des Oxalatplasmas in Minuten bedeuten. Je kleiner die Zahl, desto schneller die Gerinnung, um so größer somit die noch erhaltene Menge Cytozyms. Die angegebenen Werte müssen in jeder Zeile mit der am Ende derselben stehenden Kontrolle „Extrakt allein" verglichen werden,

in welcher die Wirkungsstärke der verwendeten, am Beginn der Zeile notierten Extraktdose zu erkennen ist. Je längere Zeit im Vergleich zu der Kontrolle vergeht, desto stärker hemmend hat das geprüfte Serum, Albumin etc. auf den Extrakt gewirkt. fl. bedeutet Ausbleiben der Gerinnung (flüssig; meist wurde 2—3 Stunden beobachtet). Die vierte Zeile jedes Versuches enthält als Kontrolle das betreffende Serum, Albumin etc. in gleicher Menge, aber ohne Extrakt; es gerinnt nur, wenn schon eigenes Cytozym vorhanden war. Für alle Einzelheiten sei nochmals auf die eingangs erwähnte Arbeit verwiesen.

Protokoll I.

Die Sera wurden nach Gerinnung des Blutes zweimal gut zentrifugiert und blieben 1 Tag im Kühlraum. Hierauf wurden sie mit gesättigtem Ammonsulfat zu gleichen Teilen ($^1/_2$ Sättigung) oder mit $^1/_2$ ihres Volumens ($^1/_3$ Sättigung) versetzt, nach $^1/_2$ Stunde scharf zentrifugiert, die Albumine abpipettiert; die Globuline auf einen Filter gebracht, mit gesättigter $(NH_4)_2SO_4$-Lösung gewaschen, hierauf mit einem Messer vom Filter abgenommen, in Brunnenwasser gelöst. Albumine und Globuline wurden hierauf in Pergamentschläuchen 2 Tage gegen fließendes Wasser dialysiert, hierauf in flachen Schalen bei 37° und etwas bewegter Luft (Brutschrank) eingeengt (Albumine auf das 4-fache [Serum B] bis 2-fache [Serum 55 und Lues] Serumvolumen, Globuline stets 2-faches Serum volumen); bei der Berechnung der Albumine muß die nach dem Zentrifugieren erhaltene Menge als Grundlage genommen und hierbei die Verdünnung berücksichtigt werden; s. Friedemann, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 65.

	Serum aktiv								Serum inaktiv								Kontrolle: Extr. allein
	$^1/_3$ Sättigung			$^1/_2$ Sättigung			Serum ungespalten		$^1/_3$ Sättigung			$^1/_2$ Sättigung			Serum ungespalten		
	Albumine	Globuline	Alb. + Gl.	Albumine	Globuline	Alb. + Gl.	konz.	verd.	Albumine	Globuline	Alb. + Gl.	Albumine	Globuline	Alb. + Gl.	konz.	verd.	
Serum B																	
Extr. $^1/_{40}$	5	2	7	6	2	2	5	8	30	4	14	4	4	$6^1/_2$	6	9	2
„ $^1/_{120}$	8	2	10	20	2	6	40	60 ±	fl.	7	20	7	8	14	fl.	60	4
„ $^1/_{240}$	45	2	45	fl.	2	45	fl.	fl.	fl.	7	60 ±	8	20	22	fl.	fl.	14
ohne Extr.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.
Serum 55																	
Extr. $^1/_{80}$	5	2	6	9	2	7	9	9	11	5	20	5	5	$6^1/_2$	9	10	3
„ $^1/_{240}$	30	3	20	fl.	3	120	fl.	fl.	120	14	120 ±	120	30	120	fl.	fl.	16
„ $^1/_{480}$	120	3	110	fl.	60	120	fl.	fl.	fl.	60	120 ±	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	30
ohne Extr.	120	fl.	120	fl.	fl.	120	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.
Serum Lues																	
Extr. $^1/_{80}$	14	6	120	14	120	fl.	fl.	fl.	30	fl.	120	5	fl.	120	fl.	fl.	3
„ $^1/_{240}$	fl.	fl.	fl.	120	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	60	fl.	fl.	fl.	fl.	16
„ $^1/_{480}$	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	120 ±	fl.	fl.	fl.	fl.	30
ohne Extr.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.

Die Tabellen lassen folgendes entnehmen:

Die Globulinfraktion des normalen Serums verstärkt ganz wesentlich die Cytozymwirkung des Lipoidextraktes. Nach dem Inaktivieren ist dieses fördernde Vermögen sehr abgeschwächt, meist bereits in eine zwar geringe, aber doch schon deutliche Hemmung umgeschlagen. (Man vergleiche die Zahlen in der Kolonne Globuline mit denen der Kontrolle [Extrakt allein] am Ende derselben Zeile.) Im Vergleich zum ungespaltenen Serum wirken sie aber auch dann noch wesentlich weniger hemmend.

Die Albumine hemmen den Extrakt durchgehends, jedoch stets weniger als das betreffende Serum ungespalten (0,1 Serum konzentriert oder gleich den Albuminen 4- resp. 2-fach mit NaCl-Lösung verdünnt); zwischen den bei $^1/_3$ und $^1/_2$ Sättigung erhaltenen Albuminen sind dabei häufig geringe Unterschiede, die aber nicht regelmäßig angetroffen wurden. Meist hemmten die Albumine des aktiven Serums bei $^1/_3$ Sättigung, die des inaktiven Serums bei $^1/_2$ Sättigung weniger. Die Mischung von Albuminen und Globulinen gibt eine Gerinnungszeit, die zwischen der der Albumine und jener der Globuline liegt, so daß auch hier stets eine geringere Hemmung als im ungespaltenen Serum zu beobachten war; die Albumine heben somit die fördernde Wirkung der Globuline etwas, jedoch nicht vollständig auf.

Wir sehen, daß die Gerinnungsreaktion mit den bei der Wassermannschen Reaktion beschriebenen Befunden zwar insofern übereinstimmt, als auch hier ein Antagonismus von Albumin- und Globulinfraktion zum Ausdruck kommt, daß aber die einzelnen Faktoren sich gerade entgegengesetzt verhalten. Die Globuline, die bei der Komplementbindungsreaktion ein mehr oder weniger starkes antikomplementäres Verhalten zeigen, also nach der positiven Seite reagieren, zeigen im Gerinnungsversuch eine entweder direkt beschleunigende Wirkung oder doch eine im Vergleich zum Ausgangsmaterial stark verminderte Hemmung, reagieren somit nach der Gerinnungsreaktion negativ. Zusatz der Albumine hebt diese Wirkung mehr oder weniger auf, ähnlich wie er auch das antikomplementäre Verhalten der Globuline schwächt, wobei die Mischung ungefähr der algebraischen Summe der Komponenten entspricht.

Beim luetischen Serum konnte eine Spaltung in einen hemmenden und in einen fördernden Teil nicht erzielt werden. Hier hemmen auch die Globuline sehr deutlich, manchmal absolut; die Albumine geben ebenfalls eine ausgesprochene Hemmung, die aber auch hier geringer ist als die des gleich verdünnten ungespaltenen Serums. Die Mischung von Albuminen und Globulinen gab stets eine stärkere Hemmung als die Teile getrennt.

Friedemann hatte bei seinen Spaltungsversuchen gefunden, daß die Globuline des luetischen Serums durch Albumine des normalen Serums ihre antikomplementäre Wirkung verlieren, und schloß daraus, daß bei Lues eine Störung in den Albuminen vorliegen müsse, welche bedingt, daß dieselben nicht wie im normalen Serum die komplementzerstörende Kraft der Globuline aufheben. In der Gerinnungsreaktion zeigt sich aber, daß auch die Globuline des Luetikers sich ganz wesentlich von denen eines gesunden Menschen unterscheiden, da das cytozymzerstörende Vermögen, welches das ungespaltene luetische Serum aufweist, auch in ihnen (sowohl bei $^1/_2$ wie bei $^1/_3$ Sättigung) deutlich hervortritt.

Aehnlich waren die Resultate bei Spaltung des Serums mit $n/_{300}$ HCl nach Sachs. Wurde hierbei die zum gleichen Serumvolumen zugesetzte Menge der Säure variiert, so erhielt man Albumin- und Globulinfraktionen, welche sich in analoger Weise voneinander in bezug auf die Gerinnungsreaktion unterschieden, wie wir dies in Mitteilung I hinsichtlich des Cytozymgehaltes und der spontanen Thrombinbildung beschrieben haben.

Protokoll II.

Je 1,0 ccm aktiven Normalserums wird mit 5,0, 6,5, 8,0, 9,5, 11,0 und 14,0 ccm $n/_{300}$ HCl versetzt, die Globuline nach $^1/_2$ Stunde abzentrifugiert, in 2 ccm NaCl-Lösung gelöst und davon 0,2 ccm mit Extrakt digeriert. Es ergeben sich folgende Gerinnungszeiten:

Extrakt (Merck)	Spaltung in Verhältnis von 1:						Ungespaltenes Serum	Kontrolle: Extr. allein
	5	6,5	8	9,5	11	14		
1:80	1	1	2	3	2	1	fl.	1
1:240	2	3	16	40	9	2	fl.	2
1:560	5	16	60 ±	60 ±	60 ±	9	fl.	5
Globuline allein	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	—

II. Zusatz von destilliertem Wasser.

Aktive Sera werden bekanntlich durch Verdünnung mit Wasser eigenhemmend oder geben eine positive Wassermannsche Reaktion. Auch hier lieferte die Gerinnungsreaktion ein entgegengesetztes Resultat; die folgenden Protokolle lassen erkennen, daß derart behandelte Sera eine verminderte Hemmung oder sogar eine Verstärkung des zugesetzten Cytozyms bewirken. Diese Beschleunigung bezieht sich sowohl auf alkoholische Lipoidextrakte wie auf wässerige Blutplättchenextrakte.

Protokoll III.

Menschenserum L. verdünnt mit Wasser 1:10, nach 1 Stunde isotonisch gemacht, in der Menge von 1,0 (= 0,1 des Serums) mit Plättchen- und Lipoidextrakten geprüft.

Lipoid 0,1 einer Verdünnung $^1/_{40}$, $^1/_{200}$, $^1/_{1000}$.
Plättchen 0,1 verdünnt im Verhältnis 1:10:100.
Serumkontrolle verdünnt 1:10 mit NaCl.

Extrakt	Mit Wasser verdünnt		Serumkontrolle		Cytozym allein	
	Lipoid	Plättchen	Lipoid	Plättchen	Lipoid	Plättchen
$^1/_{40}$	1	1	2	1	1	1
$^1/_{200}$	25	2	fl.	2	2	2
$^1/_{1000}$	fl.	10	fl.	40	fl.	fl.
Serum allein	fl.	—	fl.	—	—	—

Protokoll IV.

Menschenserum L. verdünnt mit Wasser 1:2, 1:4, 1:10, nach 3 Stunden inaktiviert und isotonisch gemacht. Alle Proben, auch das inaktive Serum auf das 10-fache Volumen des Serums gebracht, in der Menge von 1,0 (= 0,1 Serum) auf die Gerinnungsreaktion geprüft. Extrakt Merck: 0,1 einer Verdünnung $^1/_{80}$, $^1/_{280}$, $^1/_{720}$; Plättchen verdünnt im Verhältnis 1:3:900.

Extrakt	Verdünnt mit Wasser						Serum + Bakterien		Kontroll-serum		Cytozym allein	
	$^1/_2$		$^1/_4$		$^1/_{10}$							
	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.
$^1/_{80}$	11	7	3	3	2	2	5	8	8	9	1	12
$^1/_{280}$	60	15	8	8	3	8	8	20	90	60	11	100
$^1/_{720}$	fl.	90	90	60	10	20	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.
Serum allein	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	—	—

Bei 10-facher Verdünnung gerinnt das Serumlipoidgemisch nach 3 Minuten, die Kontrolle (Lipoid allein) erst nach 11 Minuten. Aehnlich verstärkt ist auch der Plättchenextrakt (8 Minuten gegenüber 100 Minuten).

III. Zusatz von Suspensionen.

Wir haben in unserer Mitteilung III[1]) darüber berichtet, daß verschiedene Suspensionen (Bakterien, Kaolin, Agar) im Serum Globulinfällungen bewirken, welche wir in vielen Fällen durch die Wassermannsche Reaktion nachweisen konnten. Es wurden daher gleich behandelte Sera auch auf ihr Verhalten in der Gerinnungsreaktion geprüft.

Von Wichtigkeit ist hierbei die Berücksichtigung der Konzentrationsverhältnisse, da eine jede Verdünnung des Serums die Hemmung herabsetzt. Unsere Technik wurde daher so modifiziert, daß zu je 1 ccm sorgfältig gewonnenen, frischen Serums 0,2 ccm einer dichten Bakterien- oder Kaolinsuspension zugesetzt wurde (Agar eignet sich weniger zu Gerinnungsversuchen, da, falls noch Spuren im Serum zurückbleiben, diese an sich hemmend wirken). Nach Stehen und scharfem Zentrifugieren wurde mit je 0,1 ccm des Abgusses die Reaktion ausgeführt.

Prüfung von Seren, die mit Suspensionen vermischt worden sind, auf Gerinnungsreaktion.

1 ccm Serum (aktiv und inaktiv) wurde mit 0,2 der Bakterien- oder Kaolinsuspension einige Stunden lang im Brutschrank stehen gelassen, abzentrifugiert und mit Lipoid Merck bzw. Plättchenextrakt auf die Gerinnungsreaktion geprüft.

Protokoll V.

Meerschweinchenserum aus der Parotis. Das Anaphylatoxin aktiv sowie inaktiviert geprüft mit Lipoid Merck.

Extrakt	Serum + Bakterien		Serum allein	
	aktiv	inaktiv.	aktiv	inaktiv.
$^1/_{40}$	3	2	4	2
$^1/_{80}$	3	2	4	2
$^1/_{160}$	3	2	15	2
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.

Protokoll VI.

Menschenserum H. Geprüft wurde:

I. aktives Serum + die betreffende Suspension,
II. aktives Serum + die betreffende Suspension, nach der Behandlung inaktiviert,
III. inaktives Serum, mit der Suspension behandelt.

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 40.

Art der zugesetzten Suspension	Bakterien			Kaolin			Agar			Unbehandelt		Extrakt allein
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	akt.	inakt.	
$^1/_{40}$	2	2	2	4	2	2	2	2	1	2	1	1
$^1/_{80}$	2	2	2	18	2	2	2	2	2	10	2	1
$^1/_{160}$	15	3	2	fl.	35	10	12	2	2	45 ±	10	1
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	—

Protokoll VII.

Menschenserum H. Geprüft mit einer absteigenden Menge von Plättchen sowie Lipoid Merck. Extrakt $^1/_{80}$, $^1/_{240}$, $^1/_{720}$; Plättchen abgestuft 1 : 3 : 9.

Extrakt	Akt. Ser. + Bakt.		Akt. Ser. + Kaolin		Inakt. Ser. + Bakt.		Kontrollserum				Kontrolle: Extr. allein	
							aktiv		inaktiv.			
	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.
$^1/_{80}$	3	10	4	25	3	25	3	10	3	15	2	28
$^1/_{240}$	3	60	25	90 ±	4	fl.	6	60	6	fl.	2	fl.
$^1/_{720}$	10	180	fl.	fl.	15	fl.	60	90 ±	90 ±	fl.	4	fl.
Ser. allein	90 ±	—	fl.	—	fl.	—	90 ±	—	fl.	—	—	—

Protokoll VIII.

Menschenserum G. Aktiv geprüft mit Lipoid Merck ($^1/_{40}$, $^1/_{80}$, $^1/_{360}$) und Plättchen, verdünnt 1 : 3 : 9.

Extrakt	Aktives Serum + Bakterien		Serum allein		Kontrolle: Extrakt allein	
	Lipoid	Plättchen	Lipoid	Plättchen	Lipoid	Plättchen
$^1/_{40}$	1	3	1	3	1	2
$^1/_{120}$	2	5	5	5	2	3
$^1/_{360}$	fl.	8	fl.	9	$2^1/_2$	6
Serum allein	fl.	—	fl.	—	—	—

Protokoll IX.

Menschenserum L. Anaphylatoxin verglichen mit den nach Sachs ($n/_{300}$ HCl) gefällten Globulinen sowie mit Serum, das 1 : 10 mit Wasser verdünnt gestanden hatte (Aquaserum). Extrakt abgestuft $^1/_{40}$, $^1/_{200}$, $^1/_{1000}$; Rinderplättchen 1 : 10 : 100.

Extrakt	Serum aktiv				Globuline				Aquaserum				Serum				Extrakt-Kontr.	
	+ Bakt.		+ Kaolin		aktiv		inaktiv.		aktiv		inaktiv.		aktiv		inaktiv.			
	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.
$^1/_{40}$	1	1	10	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1
$^1/_{200}$	60	2	fl.	4	2	2	3	2	25	2	2	2	fl.	2	10	2	2	4
$^1/_{1000}$	fl.	40	fl.	fl.	25	10	fl.	50 ±	fl.	10	60 ±	17	fl.	40	fl.	30 ±	fl.	fl.
Ser. allein	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	—	—

Aus den Protokollen geht hervor, daß die Bakterien das Serum so verändern, daß es relativ weniger hemmt als das ursprüngliche Serum, wenn es uns auch nicht gelungen ist, eine Beschleunigung des Cytozyms zu erzielen, wie es die durch Spaltung erhaltenen Globuline geben. Gegenüber Plättchenextrakten kam diese relative Beschleunigung nicht zum Vorschein. Immerhin bestätigt die Tatsache einer relativen Begünstigung der Cytozymwirkung unsere früher gemachte Feststellung von Globulinfällungen durch die Bakterien.

Bei Kaolin war dagegen eine Veränderung im Sinne einer positiven Gerinnungsreaktion deutlich erkennbar.

Das Anaphylatoxin unterscheidet sich somit im Gerinnungsversuch von den reinen Globulinlösungen dadurch, daß die letzteren das Cytozym sowohl in Form von Plättchen- wie von Lipoidextrakten absolut beschleunigen, während das Anaphylatoxin meistens nur eine geringere Hemmung gegenüber dem Lipoid aufweist als das ursprüngliche Serum, und die Reaktionsfähigkeit mit Plättchenextrakten dieselbe bleibt. Protokoll IX zeigt unter anderem, daß das Lipoid durch die Globuline in höherem Maße verstärkt wird als Plättchenextrakte (Lipoid 1, 2, 25 Min., Plättchen 1, 2, 10 Min., gegenüber den Serumwerten: Lipoid 2 Min., fl., fl., Plättchen 1, 2, 40 Min.). Das Plättchencytozym scheint somit überhaupt träger mit den Globulinen zu reagieren als das Lipoid, so daß ihre Verstärkung bei der relativ geringen Veränderung des mit Bakterien digerierten Serums nicht mehr deutlich zum Ausdruck kommt. Das unterschiedliche Verhalten des Kaolins und der Bakterien, welches durch die Gerinnungsreaktion deutlich nachweisbar ist, kommt in der Komplementbindungsreaktion nicht zum Vorschein; hier haben beide Suspensionen die Tendenz, positive Wassermannsche Reaktion oder Eigenhemmung zu bewirken. Vielleicht erklärt sich dieser Gegensatz durch die größere Absorptionskraft des Kaolins, wodurch die gröberen, das Cytozym verstärkenden Globulinteilchen entfernt werden.

Wir konstatieren jedenfalls, daß bei Globulinlösungen und beim Anaphylatoxin die Gerinnungs-

reaktion der Komplementbindung nicht parallel geht[1]).

Zwischen der Versuchsanordnung bei der Gerinnungsreaktion und derjenigen der Wassermannschen Reaktion besteht insofern ein wesentlicher Unterschied, als bei uns der als Indikator dienende Bestandteil, das Cytozym, direkt an das Antigen gebunden (vermutlich mit ihm identisch) ist, so daß alle Veränderungen des Antigens unmittelbar am Cytozym zum Ausdruck kommen und nachgewiesen werden können; während in der Wassermannschen Reaktion das Antigen im Serum eine Aenderung bewirkt, die ihrerseits auf das zugesetzte Komplement zurückwirkt und somit erst sekundär an dem letzteren nachweisbar ist. Dieser Unterschied dürfte eine gewisse Ueberlegenheit der Gerinnungsreaktion bedingen, die in einer größeren Empfindlichkeit derselben zum Ausdruck kommt und gestattet, noch ganz schwach positive Seren durch deutliche Ausschläge zu erkennen.

Für die Auffassung des der Gerinnungsreaktion zugrunde liegenden Vorganges ist es von Bedeutung, daß einerseits nicht alle als Cytozym wirksamen Substanzen zur Anstellung der Reaktion tauglich sind, während andererseits auch Extrakte, denen ein Cytozymcharakter überhaupt fehlt, zum Nachweis der luetischen Veränderung des Serums (allerdings nur in Form der Wassermannschen Reaktion, nicht für die Gerinnungsreaktion) sehr wohl geeignet sein können. Cytozymgehalt und Reaktionsfähigkeit mit luetischen Seren fallen somit keineswegs immer zusammen; die für die Gerinnungsreaktion brauchbaren Antigene müssen freilich beide Eigenschaften zugleich besitzen. Dies ist bei sehr vielen alkoholischen Organextrakten der Fall, wohingegen manche ätherische und Acetonextrakte arm oder frei von Cytozym sind. Wir müssen somit an den für die Gerinnungsreaktion verwertbaren Extrakten zwei Eigenschaften unterscheiden, ihre Cytozymwirkung und ihre „spezifische", auf das luetische Serum speziell eingestellte Wirkung. Ob beide Eigenschaften auf dieselbe

1) Bei mit Anaphylatoxin vergifteten sowie im anaphylaktischen Shock gestorbenen Tieren ließ sich eine positive Gerinnungsreaktion nachweisen. Wir werden nächstens darüber genauer berichten.

oder auf verschiedene Substanzen zu beziehen sind, ist vorläufig nicht entscheidbar.

Der Umstand, daß bestimmte Extrakte ohne Cytozymgehalt mit luetischen Seren gleichwohl reagieren, gab uns die Möglichkeit, zu untersuchen, inwieweit die Zustandsänderungen, welche einerseits zur Komplementbindung, andererseits zum Verschwinden des Cytozyms führen, identisch sind.

Wir haben untersucht, ob durch gleichzeitigen oder nachfolgenden Zusatz gerinnungsaktiver Substanzen zu dem Gemisch eines an sich inaktiven Extraktes mit einem luetischen Serum an dem zugesetzten Cytozym eine Abschwächung zu bemerken wäre. Zu diesen Versuchen diente ein für die Wassermannsche Reaktion gut brauchbarer Acetonextrakt aus trockener Luesleber, der allein keine Cytozymwirkung besaß. Positive und negative Sera wurden in der üblichen Weise mit fallenden Extraktdosen digeriert und geeignete Mengen Cytozymlösung zugesetzt; als solche diente teils ein an sich mit luetischen Seren nicht spezifisch reagierendes Cytozym, wie z. B. wässeriger Blutplättchenextrakt, teils kleine Dosen Merckschen Herzextraktes. Da letzterer bereits allein mit Luesseren reagiert, war hierbei bloß darauf zu achten, ob der Acetonextrakt eine Zunahme der Hemmung hervorrufen, sich somit in seiner spezifischen Wirkung zu der des Cytozyms addieren würde. Die Versuche ergaben übereinstimmend, daß eine Beeinflussung des Cytozyms durch derartige, an sich cytozymfreie Extrakte bei der gewählten Anordnung nicht möglich ist. Die Plättchenextrakte erleiden im Vergleich zur Kontrolle (Serum + Plättchen ohne Acetonextrakt) überhaupt keine Veränderung, der Mercksche Extrakt reagiert trotz dem zugesetzten Acetonextrakt so, als ob er allein mit dem Serum vermischt worden wäre.

Da es nach Versuchen von Jacobsthal sowie nach theoretischen Ueberlegungen wahrscheinlich ist, daß der Lipoidextrakt eine Fällung der Globuline des Serums hervorruft, haben wir (Plättchen-)Cytozym nach stattgefundener Reaktion von Serum und Acetonextrakt zugesetzt. Derartige Cytozymlösungen werden, wie erwähnt, durch Globulinfällungen in ihrer Gerinnungsaktivität meist merklich verstärkt. Es war aber

auch hier eine Zunahme des Cytozymcharakters nicht nachweisbar. Merckscher Lipoidextrakt wurde etwas weniger abgeschwächt als in Seren ohne vorherigen Acetonextraktzusatz, was wohl auf eine teilweise Absättigung der mit Lipoiden reagierenden Serumbestandteile zurückzuführen ist.

Wir haben auch daran gedacht, daß bei der Reaktion des inaktiven luetischen Serums mit dem Lipoid eine Labilisierung der Globuline des Komplementes stattfinden und gerinnungstechnisch nachweisbar sein würde. Die Versuchsanordnung wurde daher so getroffen, daß neben dem gerinnungsinaktiven Acetonextrakt noch frisches Komplement zugesetzt wurde. Die Versuche ergaben wohl eine verschiedenartige Beeinflussung des mit dem Komplement vermischten Cytozyms, jedoch keine Spezifität für Lues. Es ließ sich somit auch hier eine Fällung der Globuline des Meerschweinchenserums gerinnungsphysiologisch nicht nachweisen.

Ferner haben wir untersucht, ob fertiges Thrombin ähnlich wie das Komplement abgelenkt werden kann. Acetonextrakte wurden 40 Minuten mit luetischen und normalen Seren stehen gelassen und nachträglich eine oxalierte (aus Plättchen und Serozym erhaltene) Thrombinlösung zugesetzt. Nach 15 Minuten langer Einwirkung wurde das noch vorhandene Thrombin austitriert; das Protokoll XIII zeigt, daß ein Unterschied zwischen normalen und luetischen Seren nicht gefunden werden konnte.

Protokoll X.

Versuch, ob Plättchenextrakte, zum gerinnungsinaktiven Acetonleberextrakt, verstärkt oder abgelenkt werden.

Acetonextrakt 0,1 auf 3,0 ccm NaCl. In jedes Röhrchen kommen 0,1 Serum; 0,1 des Acetonextraktes sowie 0,1 einer absteigenden Verdünnung (Reihe 2 halbe Konzentration) von Plättchenextrakt. Kontrollen enthalten 0,1 Serum, 0,1 Plättchenverdünnung und 0,1 NaCl.

	Positives Serum				Negatives Serum				Kontrolle: Plättchen	
	+ Plättch.		+ Plättch.		+ Plättch.		+ Plättch.			
	+ Extr.	+ NaCl	+ Extr.	+ NaCl	+ Extr.	+ NaCl	+ Extr.	+ NaCl	+ Extr.	+ NaCl
Plättchen abgestuft	8	8	15	15	10	10	8	8	7	5
	15	25	fl.	fl.	25	25	27	33	16	20
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	—

Protokoll XI.

Versuch, ob der Zusatz des gerinnungsinaktiven Acetonextraktes zum gerinnungsaktiven alkoholischen Meerschweinchenextrakt dessen Reaktionsfähigkeit mit dem luetischen Serum beeinflußt.

Meerschweinchenextrakt verdünnt 1:40, 1:80, 1:160 in NaCl, andererseits in verdünnter Acetonextraktemulsion (1:300). 0,1 der betreffenden Emulsion mit 0,1 eines luetischen bzw. normalen Serums vermischt.

Konzentration des Extraktes	Positives Serum mit		Negatives Serum mit	
	Aceton- + alkohol. Extr.	alkohol. Extr. allein	Aceton- + alkohol. Extr.	alkohol. Extr. allein
1:40	50	50	2	2
1:80	50	50	2	2
1:160	fl.	fl.	5	5

Protokoll XII.

Versuch, ob durch Lipoide bei positiven Seren eine Globulinfällung bewirkt wird, die durch Zusatz von Cytozym nachgewiesen werden kann.

Acetonextrakt 1:30, davon 0,1 mit positiven und negativen Seren stehen gelassen (Kontrolle entsprechend mit NaCl verdünnt). Nach 40 Minuten zugesetzt: Lipoid Merck 0,1 der Verdünnung 1:80, 1:400, 1:2000 sowie Plättchen 1:100, 1:1000, 1:10 000. Sera 79 und 85 sind luetisch, Sera 84 und 78 normal.

Extrakt	Positives Ser. 78				Positives Ser. 85				Negatives Ser. 84				Negatives Ser. 78				+ Acet.-Extrakt		+ NaCl	
	+ Acet.-Extrakt		+ NaCl		+ Acet.-Extrakt		+ NaCl		+ Acet.-Extrakt		+ NaCl		+ Acet.-Extrakt		+ NaCl					
	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.
$^1/_{80}$	1	10	1	fl.	1	1	1	6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
$^1/_{400}$	2	fl.	4	fl.	2	20	3	fl.	2	1	2	2	2	1	2	1	3	1	3	1
$^1/_{2000}$	120±	fl.	fl.	fl.	65	fl.	80	fl.	50	4	60±	15	30	4	20	10	fl.	4	fl.	4
Ser. allein	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	40	—	80 ±	—	fl.	—	fl.	—

Protokoll XIII.

Versuch, ob fertiges Thrombin abgelenkt wird.

Das Thrombin wird durch Vermischen von Plättchenextrakt, CaNaCl-Lösung und Serozym hergestellt, dann oxaliert und zu einer Mischung von 0,1 Serum + 0,1 Acetonextrakt zugesetzt und 15 Minuten stehen gelassen (geprüft mit zwei positiven [a und b] und zwei negativen [c und d] Seren).

Thrombin	Positive Sera				Negative Sera				Thrombin allein
	a		b		c		d		
	+ Acet.-Extrakt	ohne Extr.	mit Extr.	ohne Extr.	mit Extr.	ohne Extr.	mit Extr.	ohne Extr.	
0,5	5	5	5	6	5	6	5	5	5
0,2	12	14	15	18	15	14	11	10	15

Wir können somit mit Sicherheit sagen, daß nicht eine sekundäre, durch Lipoidextrakte bewirkte Zustandsänderung des Serums in der von uns angegebenen Gerinnungsreaktion zum Ausdruck kommt, daß diese Reaktion vielmehr eine am Lipoid selbst stattfindende Veränderung nachweisen läßt. Nur diese direkte Beeinflussung des Extraktes durch das Serum, nicht die sekundären Zustandsänderungen, welche zur Komplementbindung führen, können wir gerinnungsphysiologisch messen. Die Tatsache, daß mit gerinnungsinaktiven Extrakten die Wassermannsche Reaktion mit Erfolg angesetzt werden kann, besagt, daß nicht das gerinnungsaktive Prinzip vieler Extrakte in irgendeiner Weise mit der Komplementbindung in Zusammenhang stehen kann, daß also der Cytozymcharakter des Antigens für die Brauchbarkeit desselben bei der Wassermannschen Reaktion nicht von Bedeutung sein kann. Für diese Reaktion ist jedenfalls die Fähigkeit des Extraktes ausschlaggebend, gewisse Globulinveränderungen im Serum zu bewirken, während in der Gerinnungsreaktion die Veränderung, welche der Extrakt selbst durch den Kontakt mit dem Serum erleidet, direkt zum Ausdruck kommt.

Daß tatsächlich die Gerinnungstechnik ein feines Reagens auf Zustandsänderungen der Lipoide bietet, dürfte sich aus Versuchen ergeben, die wir über den Cytozymcharakter von Seifenemulsionen mitgeteilt haben [1]). Wir konnten daselbst zeigen, daß mit der gleichen Seifenkonzentration verschiedene Wirkungen erzielt werden, je nach dem Gehalt an Salzen, welche das zur Emulgierung dienende Medium aufweist.

Der Umstand, daß unsere Technik Zustandsänderungen gerinnungsaktiver Lipoide mit großer Exaktheit nachweisen läßt, ließ erwarten, gewisse serologische Probleme weiter zu klären; speziell Vorgänge, welche mit der Komplementbindung nur indirekt nachgewiesen werden können. Brand hat auf unsere Veranlassung in noch nicht veröffentlichten Versuchen Kaninchen mit artfremden, wässerigen Organextrakten behandelt und die erhaltenen Immunsera auf die

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 68, 1914, p. 163.

Zerstörung der gerinnungsaktiven Elemente wässeriger und alkoholischer Extrakte der gleichen Organe geprüft. Es ergaben sich aber keine deutlichen Ausschläge; er konnte mit den betreffenden Antiseren keine spezifische Gerinnungsreaktion mit den zugehörigen Antigenen erzielen. Das Ergebnis der G.R. bei Verwendung der spezifischen Extrakte deckte sich meist mit demjenigen, welches mit beliebigen anderen, z. B. mit den bei Lues, verwendeten Lipoidextrakten erzielt wurde, war somit nicht spezifisch. Nur in vereinzelten Ausnahmefällen schien eine Organspezifität zu bestehen, die sich aber in der Gerinnungsreaktion weniger deutlich ausdrückte als in der gleichzeitig ausgeführten Komplementbindungsreaktion [1]).

Wir haben ähnliche Untersuchungen nach Immunisierung von Kaninchen mit Rinderblut und Rinderserum gemacht. Es wurde geprüft, inwieweit wässerige oder alkoholische, aus Rinderblut resp. Rinderblutkörperchen oder -serum gewonnene Extrakte elektiv durch ihre Antisera zerstört würden. Nur in einem Falle, bei welchem die Komplementbindung einen sehr starken Ausschlag ergab, konnte eine Andeutung einer positiven Gerinnungsreaktion beobachtet werden, indem das Serum die aus alkoholischem Blutextrakt hergestellte Cytozymemulsion etwas stärker abschwächte als eine Luesantigenemulsion, während ein Kontrollserum sich umgekehrt verhielt.

Protokoll XIV.

Alkoholischer Extrakt aus Rinderblut (Rinderblut in Alkohol aufgefangen 1:3, nach 1 Woche abfiltriert, Filtrat 1:20, 1:40, 1:80 in NaCl emulgiert). Als Kontrolle Lipoid Merck 1:40, 1:80, 1:160. Ein stark präzipitinhaltiges Serum (0,0001 Rinderserum gibt noch starke Trübung) und ein normales in der Menge von 0,1 mit 0,1 der betreffenden Lipoidemulsion.

Extrakt	Immunis. Kan.		Normales Kan.		Kontrolle: allein	
	Lipoid Merck	Extrakt Rinderbl.	Lipoid Merck	Extrakt Rinderbl.	Lipoid Merck	Extrakt Rinderbl.
1:40 (20)	3	5	3	3	1	1
1:80 (40)	10	12	7	5	1	2
1:160 (80)	30 ±	fl.	19	6	2	3
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	—

1) Wir haben auch Versuche mit Wurmlipoiden gemacht, die nach den eingehenden Untersuchungen von K. Mayer mit dem Serum der mit ihnen vorbehandelten Tiere unter Komplementbindung reagieren; auch hierbei wurden bisher nur negative Resultate erhalten.

Durch Zusatz von Lipoid- und Plättchenextrakten zu Antigen-Antikörpergemischen konnten wir ebenfalls keine Technik ausbilden, welche die Komplementbindungsreaktion durch die Gerinnungsreaktion zu ersetzen gestattet.

Theoretische Betrachtungen.

Da sich die Gerinnungsreaktion bei Lues mit der Wassermannschen Reaktion deckt, sind wir berechtigt, diejenigen Anschauungen, welche gegenwärtig für die Entstehung der W.R. Geltung haben, auf die G.R. zu übertragen.

Ueber das Wesen der W.R. läßt sich kurz folgendes sagen: Verschiedene Substanzen, zum normalen Serum zugesetzt, können in vitro ein nach Wassermann negatives Serum positiv machen (Suspensionen, Agar, Fettsäuren, Chloroform etc.). Was die Suspensionen betrifft, so haben wir diesen Umschlag der Reaktion auf Globulinfällungen zurückgeführt und zeigen können, daß auch Eingriffe physikalischer Art, die nur den Dispersitätsgrad und die Lösungsverhältnisse der Serumkolloide berühren (wie Schütteln), imstande sind, diese Veränderung zu bewirken[1]). Bekannt ist ferner, daß die von den Albuminen getrennten und wieder gelösten Globuline normaler Seren häufig positive W.R. oder Eigenhemmung geben (Landsteiner, Friedemann). Aus diesen Beobachtungen ergibt sich, daß ein besonderer, von dem normalen abweichender Zustand, eine erhöhte Labilität der Serumkolloide, das für den Ausfall der Reaktion entscheidende Moment darstellt. Es ist wahrscheinlich, daß auch die anderen Substanzen, wie z. B. Fettsäuren, Chloroform etc., welche das Serum in gleicher Weise beeinflussen sollen, ihre Wirkung einem ähnlichen Mechanismus verdanken. Auch bei Lues dürfen wir die positive W.R. mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine Labilisierung der Globuline zurückführen, ohne daß es uns freilich möglich wäre, zu sagen, auf welche Weise diese eigentümliche Zustandsänderung im Serum zustande kommt. Die Lipoide des Extraktes hätten dann hauptsächlich die Funktion, den Dispersitätsgrad der labilisierten Globuline weiter zu ändern, jedenfalls durch eine Vergrößerung der

1) Diese Zeitschr., Bd. 21; Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 25.

Teilchen, wobei die antikomplementäre Kraft der Globuline zunimmt [1]). Die Vorstellung, daß die Lipoidextrakte im luetischen Serum eine Fällung bewirken, wird gestützt durch die Parallelität der Fällungsreaktion mit der Komplementbindungsreaktion (Porges, Thomson und Boas, Zeitschr. f. Immunitsf., Bd. 16), sie läßt sich auch im Ultramikroskop direkt verfolgen (Jacobsthal).

Legen wir diese Anschauungen auch der G.R. zugrunde, so wäre in erster Linie die Eigenschaft des Lipoidextraktes zu betonen, daß derselbe ultramikroskopische Fällungen im Serum bewirkt und mit ihnen ausfällt; da die Gerinnungsaktivität des Extraktes unter dem Einfluß des luetischen Serums abnimmt, müssen wir annehmen, daß die Lipoidpartikel von den sich zusammenlagernden Globulinteilchen eingeschlossen und so ihrer Wirksamkeit beraubt werden.

Gegen diese Hypothese erhebt sich allerdings der Einwand, daß die G.R. und die W.R. sich, abgesehen vom luetischen Serum, nicht immer decken [2]), und daß namentlich die vom Serum getrennten Globuline, die geschüttelten Sera etc., welche nach Wassermann positiv reagieren oder allein das Komplement binden, nicht nur die G.R. nicht geben, sondern im Gegenteil den Cytozymcharakter der gerinnungsaktiven Substanzen außerordentlich verstärken. Diesen Widerspruch möchten wir auf folgende Weise erklären: Beim Schütteln, bei Lösung der ausgefällten Globuline etc. tritt eine grobe Veränderung im Dispersitätsgrad der Globuline ein, die sich schon dem freien Auge als Trübung oder Opaleszenz verrät. Diese Globulinteilchen haben eine stark adsorbierende Kraft und reißen daher leicht adsorbierbare Stoffe — und zu diesen gehört auch das Cytozym — an ihre Oberfläche; hierbei wird, wie der Versuch ergibt, die Wirksamkeit des Cytozyms verstärkt. So kommt das der luetischen G.R. entgegengesetzte Resultat zustande: während bei dieser der Extrakt erst eine Globulinfällung bewirkt, welche

1) Friedemann denkt eher an eine Verstärkung der antikomplementären Wirkung durch die Seifen des Extraktes.

2) Siehe diesbezüglich auch die Arbeit von Brand, Deutsche med. Wochenschr., 1915.

das Extraktteilchen umschließt und es zur Reaktion mit dem Serozym unfähig macht, gerät das Cytozym hier an die schon fertige Oberfläche gröberer Teilchen und erfährt so eine Verstärkung, welche eine etwa nebenbei ablaufende teilweise Zerstörung nur schwer zum Ausdruck kommen läßt[1] [2].

Im Komplementbindungsversuch kommt eine derartige durch die Teilchengröße bedingte Differenz weniger zum Ausdruck, da das Komplement nicht selbst fällend wirkt und nur als eine dritte, an der Grundreaktion selbst nicht beteiligte Substanz an die entstandenen oder entstehenden Oberflächen adsorbiert wird, wobei es allerdings (im Gegensatz zum Cytozym) seine Wirksamkeit verliert. Der prinzipielle Unterschied bei der Reaktion wäre somit darin begründet, daß bei der Gerinnungsreaktion das als Antigen und das als Indikator dienende Prinzip in einer Substanz vereinigt sind, die Aenderung somit an dem Antigen direkt angezeigt und gemessen wird, während bei der Komplementbindungsreaktion der Indikator (das Komplement) nur indirekt beteiligt ist.

Wir sind von der Vorstellung ausgegangen, daß der Extrakt Fällungen in positiven Seren bewirkt, und führen die Abnahme der Gerinnungsaktivität des Extraktes auf Einschließung und Fällung desselben zurück. Nun hat sich bei unseren Cytozymstudien ergeben, daß das Cytozym wegen seiner guten Adsorbierbarkeit an Globulinteilchen gewisse im Serum aufgetretene Fällungen durch eine Zunahme seiner Gerinnungsaktivität erkennen läßt. Es erhob sich daher die Frage, ob wir diese für die Wassermannsche Reaktion angenommenen Fällungen mit der Gerinnungstechnik nachweisen können.

---

1) Die Aenderungen an den Globulinen sind in der Komplementbindung mehr in Form von Eigenhemmung denn als W.R. vorhanden, der Extraktzusatz bewirkt eher eine Verstärkung der schon vorher vorhandenen komplementbindenden Fähigkeit. Es verrät sich somit auch hier, daß dieser Zustand von jenem des luetischen Serums verschieden ist.

2) Nachtrag bei der Korrektur: Globulinlösungen wirken auch dann fördernd, wenn sie erst nach Abschluß der Thrombinbildung (d. i. nach Zugabe des Oxalatplasmas) zugesetzt werden. Es wäre somit zu untersuchen, wie weit bei den beobachteten Beschleunigungen durch Globuline tatsächlich eine Wirkung auf das Cytozym (Thrombinbildung) oder vielmehr eine solche auf die Fibrinogenfällung (Thrombinwirkung) vorliegt.

Wir haben die Frage dadurch zu lösen versucht, daß wir an sich gerinnungsinaktive, cytozymfreie Acetonextrakte mit dem luetischen Serum vermischten und entweder sofort oder nach stattgefundener Reaktion etwas Cytozym in Form von Plättchenextrakt zusetzten. Eine Aenderung in der Wirksamkeit solchen zugesetzten Cytozyms konnten wir hierbei nicht nachweisen. Die Zustandsänderung, welche der Extrakt im Serum bewirkt, ist somit nur durch die Komplementbindung, nicht aber durch eine Aenderung der Gerinnungsaktivität von zugesetzten Plättchenextrakten[1]) erkennbar. Zur Erklärung dieses Befundes könnte man hypothetisch annehmen, daß das Cytozym ganz bestimmter Oberflächenverhältnisse (Teilchengröße etc.) bedarf, damit die zu seiner Verstärkung führende Adsorption stattfinde (zu kleine Teilchen können anscheinend das Cytozym nicht mehr verstärken [Luesserum im Gemisch mit Lipoidextrakt], zu massige Fällungen wirken gleichfalls schlecht [Antigen-Antikörperreaktionen etc.]). Das Komplement besitzt dagegen nach diesen Beobachtungen eine viel größere Reaktionsbreite, weshalb es in beiden Fällen noch Ausschläge gibt[2]). Es wäre zwar auch denkbar, daß nicht nur die Teilchengröße, sondern eine besondere Beschaffenheit der sich bildenden Oberflächen in den angegebenen Fällen eine Cytozymverstärkung verhindert.

Neben der von uns soeben diskutierten Theorie, wonach der Lipoidextrakt eine Globulinfällung im luetischen Serum bewirkt, wäre es auch möglich, daß eventuelle Fällungen bei der Reaktion nur eine nebensächliche Rolle spielen, daß vielmehr eine durch das luetische Serum primär bewirkte Zustandsänderung des Extraktes in der Abnahme der Gerinnungs-

---

1) Der Unterschied zwischen den zur G.R. tauglichen, mit luetischen Seren reagierenden und den hierzu unbrauchbaren Extrakten soll Gegenstand einer eingehenderen chemischen Analyse sein, die wir gemeinsam mit Dr. Herzfeld in Angriff genommen haben. Vielleicht werden sich hierbei auch einige andere dieses Gebiet berührende Fragen weiter aufklären lassen. So ist es uns aufgefallen, daß eigenfällende Sera nach Zusatz von Extrakt oft später gerinnen als allein, obwohl sich eigentlich beide Cytozyme addieren müßten. Es gibt somit Cytozyme, die sich (wie das Komplement) ablenken lassen.

2) Zu starke Fällungen wirken bekanntlich auch auf die Komplementbindung ungünstig.

aktivität desselben zum Ausdruck kommt; oder auch, daß durch chemische Vorgänge die Wirksamkeit der Extraktlipoide eine Aenderung erfährt etc. Wir sind absichtlich nur auf die erste Theorie näher eingegangen, weil sie die Parallelität der beiden Luesreaktionen einheitlich erklärt, und da die meisten experimentellen Tatsachen für sie sprechen.

Zusammenfassung.

Die Arbeit enthält weitere Beiträge zum Wesen der Gerinnungsreaktion bei Lues:

1) Globulinlösungen, ferner geschüttelte oder mit Aqua verdünnte Sera, welche positive W.R. geben oder eigenhemmend wirken, führen zu einer Verstärkung des Extraktcytozyms. Dies wird darauf zurückgeführt, daß das Cytozym des Extraktes an die Oberflächen der Teilchen adsorbiert wird, was mit einer Verstärkung seiner Wirksamkeit einhergeht.

2) Aktives Serum hemmt mehr als inaktives; mit Bakterien behandeltes Serum hemmt weniger als das gleiche unbehandelte Serum. Nach Digerieren mit Kaolin tritt dagegen eine positive G.R. (vermehrte Hemmung) ein.

3) Die Mischung eines luetischen Serums mit gerinnungsinaktivem Acetonextrakt kann wohl am Komplement, nicht aber an einem zugesetzten Plättchencytozym erkannt werden. Es führen somit nur ganz bestimmte Fällungen, deren Oberfläche (sei es durch die Größe oder durch die Qualität derselben) gewissen Bedingungen entspricht, zu diesem Phänomen der Cytozymverstärkung.

4) Die Abnahme der Gerinnungsaktivität des Extraktes bei der Reaktion mit luetischem Serum wird hypothetisch auf eine um die Extraktteilchen auftretende und sie umhüllende Globulinfällung zurückgeführt. Die größere Empfindlichkeit der G.R. gegenüber der W.R. bei Lues dürfte darin begründet sein, daß bei der ersteren das mit dem Serum reagierende aktive Prinzip (Lipoid) mit dem Indikator (Cytozym) identisch ist, während bei der W.R. das Komplement ausschließlich als Indikator dient und die Veränderungen nur indirekt anzeigt.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4527

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XXIV. No. 3.

[From the Department of Pathology of the College of Physicians and Surgeons, Columbia University, New York.]

Serum Antitrypsin during Inanition.

Studies on Ferment Action. XIX.

By **James W. Jobling**, M. D., and **William Petersen**, M. D.

With 5 figures.

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Dezember 1914.)

Rosenthal (1) has demonstrated a decrease in the antiferment power of the blood of animals during starvation; the converse, an increase in the antiferment after feeding, had been noted by Zunz (2) and others. In view of the fact that Schulz (3) and Heilner and Poensgen (4) have recently shown that during starvation a proteolytic ferment can be demonstrated in the blood in the period just preceding and during the premortal and excretion of nitrogen, we considered it of interest to ascertain in greater detail the alteration in the relative balance between ferment and antiferment in the serum of animals during inanition. Both, Schulz and Heilner and Poensgen assume that the enzyme activity which they had demonstrated is due to the presence of a new ferment in the blood. The observation can, however, be interpreted as simply due to a reduction of the antiferment with a resulting freeing of protease action. That proteases capable of splitting the serum proteins are present in normal serum can be readily demonstrated in rabbit, guinea pig or dog serum after the antiferment has been removed by means of lipoidal extractives.

Free protease action in the blood is not compatible with continued life because of the intoxication of the organism by the higher splitting products of the proteins formed during

hydrolysis (5). If during starvation such a state actually obtains, might it not be possible to explain the premortal rise in nitrogen excretion and the death of the animal itself on the basis of an autointoxication with protein split products?

It is generally accepted that the duration of the life of an organism during a period of starvation depends on the amount of fat present at the beginning of the experiment, and Voit (6) believes that death follows immediately on the loss of fat. The total fat need not, however, have been exhausted when death occurs, as has been shown by Lusk (7), who collected a series of analyses made on the tissues of animals dead from starvation, and found that the organism dies despite available food substances present as fats in the tissues.

Nor is death due to a general failure of the cells of the body as a whole, for it has been demonstrated that the amount of total proteins metabolized during starvation varies greatly, and that there is no fixed proportion of protein loss as would be demanded on the basis of such an explanation.

Probably the most striking feature of the metabolic processes during starvation is the so called premortal rise in nitrogen excretion. Were this phenomenon due to a gradual attack on body proteins we might expect a correspondingly slow rise in the nitrogen excretion. This, however, seldom occurs; the increase is sudden, almost explosive in character and the excretion remains high until death occurs. Schulz (8) has possibly interpreted the picture most clearly. He assumes that during starvation we are dealing with either a low grade chronic intoxication, or a series of more acute shocks arising from toxic substances produced in the organism, the manifestation being occasional periods of fever, malaise, and weakness. Schulz concludes that the final rise in nitrogen excretion is due to such an intoxication with resulting tissue destruction. While the experiments which we have made have taken their origin from a study based on dissimilar lines from that of Schulz, whose deductions are based on purely metabolic data, they do, we believe, confirm the idea that

during starvation a series of intoxications may occur, including a final formation of toxic split products, the process as a whole being one of true autointoxication.

In the following experiments dogs and rabbits were used. The charts presented are representative so that only one of each of the normal changes during starvation will be shown. The rabbits were of the same age and of about the same weight. They were kept in small metabolism cages with constant access to water, but without food. Care was taken to avoid unnecessary handling and to keep the temperature of the room constant. The small amounts of blood needed were taken from the ear veins.

The antiferment determinations were made in the manner previously described, which in brief is as follows:

The serum is diluted 1:10 with physiological salt solution and of this dilution varying amounts are mixed and incubated for one half hour with one unit of trypsin solution. This amount is 0.1 c.c., digested 2 c.c. of a 1 per cent solution of casein in one hour. The casein is added after 30 minutes and digestion permitted for exactly one hour. The coagulable nitrogen is then precipitated by means of heat and acid, and a nitrogen determination made on the filtrate. The following protocol may serve as an example:

Tube No.	Serum 1:10	Trypsin	Casein	Nitrogen digestion in mg	Per cent digestion	Per cent inhibition
1	0	0	2 c.c.	Trace	0	100
2	0	0.1 c.c.	2 „	1.6	100	0
3	1.0 c.c.	0.1 „	2 „	0.25	15	85
4	0.75 „	0.1 „	2 „	0.32	20	80
5	0.5 „	0.1 „	2 „	0.4	24	76
6	0.25 „	0.1 „	2 „	1.10	70	30
7	0.1 „	0.1 „	2 „	1.60	100	0

All tubes were made up to 5 c.c. with physiological salt solution.

The casein solution contains 1 per cent sodium carbonate.

It will be noted that a marked drop occurs in the inhibition between the dilutions 0.5 and 0.25 of a cubic centimeter, the former amount inhibiting almost as strongly as the greater amounts of serum, while a decrease shows a marked reduction. The amount 0.5 of a cubic centimeter of serum (diluted 1 to 10) represents in this case the unit of antiferment, and by rigidly using a constant amount of serum with a uniform amount of ferment under constant conditions of time, a series of determinations will give comparable results. When the unit of antiferment no longer

inhibits, the index may be considered 0, even if a greater amount of serum may still cause some inhibition. Other observers, using a different trypsin unit, will of course obtain somewhat different results, but by consistently adhering to one preparation the final picture will be the same.

The non-coagulable nitrogen of the serum was determined by precipitating the total coagulable proteins of the blood serum with heat and acid, filtering through kaolinized hard paper filters, and making a Folin determination on the filtrate. In this way one may use one cubic centimeter of serum, and while not quite so accurate as the complete Folin method the results are sufficiently accurate for the purpose. In such experiments as these, the amount of blood that can be drawn at any one time is limited. The readings on the colorimeter are in this case not made against a standard of one milligram, but against dilutions corresponding closely to the sample to be determined.

The following experiment made on a rabbit is typical (Fig. 1).

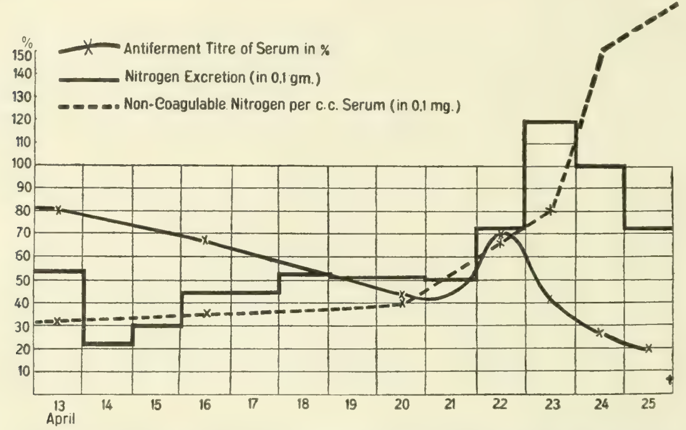


Fig. 1. Verhältnis des Antitrypsins zur Stickstoffausscheidung und zu dem nichtausfällbaren Stickstoff des Serums während der Hungerperiode (Kaninchen).

April 13, 1914. Weight 1910 g.

Antiferment inhibition for 0.075 c.c. of serum was 80 per cent.

Total non-coagulable nitrogen in 1 c.c. of serum was 0.32 mg.

During the first week the antiferment was reduced to about one half its original titre, the non-coagulable nitrogen showing a gradual rise to 0.4 mg. per cubic centimeter. Following

this period, during which the nitrogen excretion in the urine remained uniform, a sudden change occurred. A rapid rise in the non-coagulable nitrogen took place, which continued progressively until the death of the animal, when the blood contained 1.7 mg. of nitrogen per cubic centimeter, almost six times the original amount. The antiferment curve, which until April 20 had been dropping steadily showed a sudden rise following the rise in non-coagulable nitrogen. However, instead of continuing to increase, a fall is again noted, until just before death the inhibition by 0.075 c.c. serum was only about one fourth of the original. It will be observed that these changes in the balance between the non-coagulable nitrogen and the antiferment occurred just before the final premortal increase in nitrogen excretion took place.

On April 25, 1914 the animal died. Weight 1150 g. The total excretion of nitrogen for the period covered was 7.82 g. Autopsy revealed no pathological lesions other than those caused by inanition.

A similar condition obtains in dogs during inanition (Fig. 2).

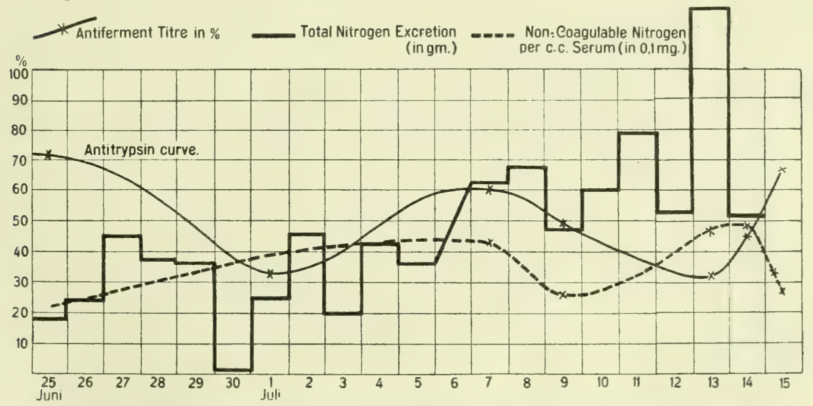


Fig. 2. Verhältnis des Antitrypsins zur Stickstoffausscheidung und zu dem nichtausfällbaren Stickstoff des Serums während der Hungerperiode (Hund).

June 25, 1914. Dog of medium size and in good state of nutrition.

Antiferment inhibition for 0.1 c.c. of serum was 72 per cent.

Total non-coagulable nitrogen in 1 c.c. of serum was 0.22 mg.

Leucocyte count 8200.

During the first week a sharp fall in antiferment content occurred, until July 1, when it reached about one half the original strength. The non-coagulable nitrogen in the blood increased until on the corresponding date it had almost doubled, i. e., 0.38 mg. per cubic centimeter, and remained high until July 7. The antitrypsin had in the meantime increased until on 7th it regained almost the original strength. This increase caused a decline in the non-coagulable nitrogen (to 0.26 mg.) when the antiferment again began to fall, reaching 42 per cent on July 13. Just before death the antiferment rose again. The period of low antitrypsin, here as in the rabbit, is coincident with the period of premortal nitrogen excretion, during which time, too, the non-coagulable nitrogen reaches its highest level, — 0.49 mg. per cubic centimeter. The final rise in antitrypsin is again sufficient to inhibit protease action so that just before death the non-coagulable nitrogen in the blood was reduced to 0.27 mg. per cubic centimeter.

The weight of the dog after death was 5900 g. The total nitrogen excreted amounted to 94.9 g.

The leucocyte and differential counts are shown in the table I.

1914	Leucocyte count	Differential count				
		Polymorpho-nuclear leucocytes	Lympho-cytes	Large mononuclear leucocytes	Baso-phils	Eosino-phils
June 25	8 800	72 %	21.5 %	1 %	0	5.5 %
July 1	28 200	78 „	15 „	0.5 „	0.5 %	5.5 „
„ 7	18 800	74 „	24 „	1 „	0	2 „
„ 9	11 800	74 „	24.5 „	1 „	0	1.5 „
„ 13	38 800	76 „	24 „	0 „	0	0 „
„ 14	39 000	77.5 „	22 „	0 „	0	0.5 „
„ 15	18 200	76 „	22 „	1 „	0	1 „

The explanation of the metabolic process pictured in these two animals seems clear if we keep in mind the fact

that the blood serum normally contains a non-specific proteolytic ferment, the activity of which is under normal conditions completely inhibited by the excess of antiferment present in the serum. Any lowering of the antiferment must alter the balance of this system, so that if the change is sufficient, enzymotic activity becomes apparent. This activity should be demonstrable in two ways, — an increase in the non-coagulable nitrogen in the blood, and the appearance of primary and secondary proteoses in the blood serum, the primary proteoses being especially those responsible for toxic manifestations. During starvation the relative composition of the blood remains fairly constant, for there seems to be no impairment of the excretory organs. There has been noted, however, a constant lipemia.

Any increase in the non-coagulable nitrogen in the blood will probably not represent excretory nitrogen, but direct split products of proteins, and will in a certain measure be an index of the amount of toxic substances in the blood due to enzyme action on the serum proteins. The isolation of the proteoses from the serum by means of fractional precipitation is uncertain, because of the small amounts of serum available at any one time in experiments of this nature. We have frequently noted the presence of appreciable amounts of secondary proteoses in the serum at various times during starvation. The blood, however, was somewhat laked and these findings should not be considered as direct evidence of protein splitting in the serum, since red blood corpuscles contain proteoses in considerable amounts.

In the first experiment the results of the alteration of the antiferment balance are readily seen. The gradual rise in the non-coagulable nitrogen is coincident with the gradual reduction of the antiferment, a reduction which continued until July 20, when evidently the enzymotic power overbalanced the inhibitory, and the non-coagulable nitrogen began to rise rapidly. It is at this time that the intoxication begins, and during this period too, it will be recalled, Schulz and Heilner and Poensgen have demonstrated the proteolytic activity of the serum. This protein intoxication is followed

by a rise in antitrypsin, as in the case following anaphylaxis, anaphylatoxin, serotoxin, or hemolysin injections, or after burns; the destruction of tissue resulting possibly in a liberation of unsaturated lipoids from the cells which then enter the circulation in a state of colloidal solution. These liopoids are, however, metabolized rapidly, the antitryptic titre falls while the non-coagulable nitrogen, representing the ferment action of the proteases, continues to rise at a rapid rate. The premortal rise in nitrogen excretion represents then the destruction of tissue due to a protein intoxication, an intoxication due to a lowering of the balance between the ferment and antiferment, the consequent activation of ferments normally present, and the resulting formation of toxic split products from proteins. The short rise in antitrypsin following this intoxication is simply another manifestation of the same process.

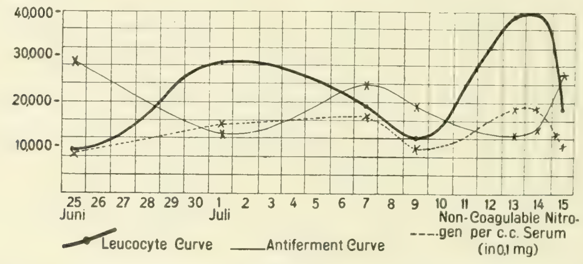


Fig. 3. Leukocytenkurve während der Hungerperiode (Hund).

In the experiment on the dog two such periods of intoxication are shown, the first extending from about the end of the first week to the beginning of the third. This intoxication is finally overcome by an increase in the antitrypsin sufficient to check further activity of the proteases, and as a result the non-coagulable nitrogen drops to almost normal (July 9). Then, the lipoids being once more exhausted, a second shock occurs, reaching its climax on July 13, at which time the greastest excretion of nitrogen took place. Again the destruction of tissue cells floods the serum with antiferment, the action of which is shown in depressing the non-

coagulable nitrogen to practically normal values, but the injury from the last shock was sufficient evidently to kill the animal, which died during marked tetanic spasms. The autopsy revealed the heart widely distended with fluid blood; the other changes were simply those due to inanition.

The leucocyte curve (Fig. 3) bears out the foregoing interpretation in a striking manner. It will be noted that there are two periods of leucocytosis, corresponding to the two periods of antiferment depression and non-coagulable nitrogen increase. The highest count, 39 000, was found on July 14, when the non-coagulable nitrogen was highest, the day following the premortal rise of nitrogen excretion. Before death, with improved antiferment balance, there is a sharp drop in the leucocyte curve. The differential count showed no marked changes except a gradual loss of eosinophils. The changes in the blood picture during starvation have recently been studied by Ash (9).

Effect of dilution of serum.

In the next experiment (Fig. 4) we determined the effect of dilution of the blood during the period when the concentration of toxic substances in the serum is greatest, i. e., just following the premortal rise in nitrogen excretion. We wished to note whether such dilution would prolong the life of the animal, or whether any possible benefit would be offset by the increased circulatory effect.

April 27, 1914. Weight of rabbit 1520 g.

Antiferment inhibition for 0.075 c.c. of serum was 66 per cent.

Total non-coagulable nitrogen in 1 c.c. of serum was 0.27 mg.

In this animal we have, as in the dog, evidence of an early protein shock, for the non-coagulable nitrogen reached 0.45 mg. on the fourth day, while the antiferment at this time had increased to 78 per cent. It is probable that there was at first a fall in the antiferment, but as no determinations were made until the fourth day, this is not shown on the

curve. The increase in the antiferment was evidently sufficient to check the ferment action, for the non-coagulable nitrogen dropped to 0.36 mg. The antitrypsin again dropped sharply, following which the non-coagulable nitrogen began to rise (after May 2), and the premortal rise in nitrogen excretion took place. From May 4 to 6 1000 c.c. of physiological solution were injected interperitoneally, which dilution may account for the fact that the non-coagulable nitrogen remained constant for twenty-four hours and never reached the concentration of other experiments. On the other hand, the dilution seems to have flooded the serum with antiferment, which would have the same effect on the ferment picture. In all other respects the results are similar to the first two experiments, a loss in antiferment being followed by a rise in non-coagulable nitrogen, which in turn, because of continued cellular intoxication, leads to the flooding of the serum with more lipoids. The dilution of the serum by means of the saline solution was evidently not sufficient to prevent the lethal effects of the protein shock, for the animal died on May 7. The weight was 1100 g., a certain percentage of which, of course, represented the fluid injected. The total nitrogen excreted amounted to 8.6 g.

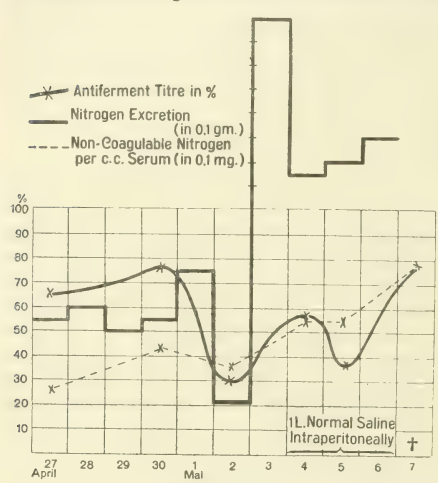


Fig. 4. Verdünnung des Serums während der Intoxikation.

Effect of increasing the antiferment.

We have recently shown that antitrypsin can be increased by the subcutaneous injection of the extracted serum lipoids, or egg fats, and that during such periods of increased antiferment the animal is more resistant to protein shock, -serotoxin (10), anaphylaxis (11).

The next experiment was undertaken to determine the influence of such an increase in the antiferment on the metabolism of animals during starvation (Fig. 5).

July 7. Weight of rabbit 1830 g.

Antiferment inhibition for 0.075 c.c. of serum was 28 per cent, very low.

The total non-coagulable nitrogen for 1 c.c. of serum was 0.32 mg.

2 c.c. of egg fats were injected subcutaneously on July 7, which caused an increase in the antiferment to 48 per cent on the second day. After the first week, when the temporary

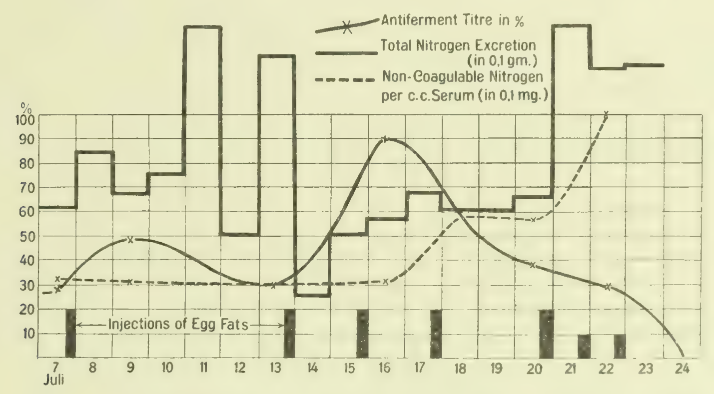


Fig. 5. Einfluß der künstlichen Erhöhung des antitryptischen Titers während der Hungerperiode.

rise in the antitrypsin had subsided, more egg fats were injected, the antiferment this time reaching 90 per cent. The non-coagulable nitrogen for the entire period had remained quite constant, thus proving that the rise in antiferment was due to the lipoids injected and not due to an intoxication. The high antiferment curve could not, however, be maintained by the small amounts of egg fats injected, and when the index was reduced the non-coagulable nitrogen immediately increased, remained at a level of about 0.57 mg. for several days, and then suddenly reached 1 mg. per cubic centimeter two days before death, corresponding to the period of premortal nitrogen excretion. The antiferment continued to decline,

there being no rise following the final protein shock; at death the serum unit gave absolutely no inhibition.

The weight at death was 1010 g. The duration of life was 18 days as contrasted to 11 and 13 days for the other two rabbits. The total excretion of nitrogen was 13.64 g., as compared with 7.82 and 8.6 g.

The metabolic picture is quite different from the other two rabbits. Beginning with a low antiferment index and a high nitrogen excretion during the first week, the relation is reversed during the second, when a high antiferment index results in a small excretion of nitrogen. During the first week and part of the second there is no increase of the non-coagulable nitrogen of the blood, which only begins to rise with the fall in antiferment during the second half of the second week, upon which follow the usual signs of intoxication and the premortal increase in nitrogen excretion. The life of the animal was prolonged at least four days.

Discussion.

Apart from any clinical bearing, a subject which we wish to take up in a later paper, these experiments offer several confirmatory lines of evidence in regard to the nature of serum antitrypsin and its relation to the protein metabolism of the organism. We have previously discussed in some detail the lipoidal nature of the antiferment (12), though we touched only briefly upon some of the other theories and the objections that can be brought against them.

According to the idea of Rosenthal (1) the antitryptic activity of the serum is due to the accumulated split products of proteins therein contained. Any of the foregoing experiments will show the fallacy of this position. Inded, in most cases the reverse is actually true, for when the antiferment has reached its lowest level the non-coagulable nitrogen is present in greatest concentration, a logical state of affairs considering the inhibitory properties of the antitrypsin.

The other theory as to the nature of serum antitrypsin which finds some support is the idea that the antiferment is

of the nature of an antibody produced by the action of the trypsin in the body in an antigenic capacity. Many experiments have been made which show conclusively that the antiferment is reduced when the pancreas is extirpated, the deduction being that with the lack of stimulation from the tryptic antigen the production of the antibody is lessened. These investigators ignore the fact that their animals are in a state of starvation and that the reduction of the antiferment index is due to this fact and none other.

Nor do the ordinary serum lipoids, present in a coarse dispersion, affect the antiferment property to any degree, for if they did the antiferment property of the blood would be increased because of the lipemia which is a recognized feature of the blood picture during inanition. When we consider the huge size of the ordinary fat droplet in the serum with the minute enzyme unit this is not surprising, although the argument is frequently advanced that the serum lipoids can have no relation to the antiferment index because the amount of total liopoids present need bear no relation to the amount of inhibition. The activity is not only dependent on their degree of unsaturation, but also on their colloidal state of dispersion.

In starvation, with its tremendous tax on the fat deposits, we can readily understand that the serum lipoids, more especially those in a state of great dispersion, must be metabolized readily, so that a lowering of the antiferment index is to expected. So too, in the light of other intoxications, the rise in antitryptic index noted at the various periods of the chart becomes clear, for with the cellular destruction large quantities of colloidal unsaturated lipoids will be thrown into the circulation. This mobilization of lipoids need not, however, take origin in the actual destruction of cells in a morphological sense, the loss of lipoids due to each cell giving up only a small amount to restore the altered balance may lead to alterations resulting in death without specific morphological changes being evident.

If the intoxication is severe enough the animal dies shortly after the shock; if not, the increase in antiferment

power may prove sufficient to overcome further protease action, and life is possible until another fall in the antiferment index occurs. While the total quantity of fats in the body determines in a great way the duration of life during the period of inanition, as contended by Voit (6), the "other factor", which Schulz (8) felt must be the direct cause of death, is, we believe, to be sought in the intoxication resulting from the altered balance of the ferment-antiferment system.

That the rate of protein metabolism is intimately influenced by the amount of antiferment in the blood might be indicated by the following table in which the average antitryptic index for the first five days of starvation of four rabbits is compared with the total amount of nitrogen metabolized.

Animal No.	Per cent inhibition	Nitrogen excreted
1	41 per cent	4.24 g.
2	66 „ „	2.95 „
3	71 „ „	1.97 „
4	73 „ „	1.99 „

The excretion of nitrogen seems to be inversely proportional to the antiferment index. This can be shown if we take several of the individual charts and study different periods in them. In Figure 1, for instance, we can divide the period before the intoxication into parts of four days each. The antiferment index for the first four days is about 74 per cent, the nitrogen excretion 1.52 mg. For the second period (July 17 to 20), the antiferment index was 52 per cent. If the ratio is inverse, then the nitrogen excreted should have been 2.1 grams. The observed amount was 2.02 grams. Or we may take Figure 5 and select a period during the first five days when the antiferment index was low and compare it with the period following the increase in antiferment. The average antiferment index (July 7 to 12) was 41 per cent, the nitrogen excreted amountet to 4.24 grams. The average antiferment for the second period (July 16 to 21) was 62 per cent. The calculated excretion of nitrogen would be 2.8 grams. The amount actually obtained was 3.1 grams.

The relation, while not absolute, is striking and bears out the table showing that a low antiferment index is under normal conditions associated with a high nitrogen excretion.

We can therefore understand that such substances as the iodides (13), which lower the antiferment, should be associated with an increase in protein metabolism, while phosphorus (14), egg fats, and unsaturated oils — olive oil, cod liver oil — will tend to increase the antiferment index and in this way depress protein metabolism, and so indirectly lead to a storage of nitrogen apart from any intrinsic food value in themselves.

Zusammenfassung.

1) Während der Hungerperiode läßt sich eine Abnahme des Antitrypsins wahrnehmen.

2) Das Herabsetzen des antitryptischen Titers wird durch eine Zunahme des nichtausfällbaren Stickstoffes im Serum begleitet; eine Zunahme, welche eine Eiweißzerfallstoxikose andeutet. Solche Perioden der Vergiftung haben eine Erhöhung des antitryptischen Titers zur Folge; durch die Zunahme des Antitrypsins kann eine weitere proteolytische Wirkung im Serum gehemmt werden.

3) Die prämortale Stickstoffausscheidung folgt kurz der Periode des niedrigsten antitryptischen Titers und der darauf folgenden Anhäufung des nichtausfällbaren Stickstoffes im Serum.

4) Der Hungertod wird durch eine Vergiftung mit Eiweiß-Spaltprodukten verursacht. Unsere Experimente bestätigen die Arbeit Schulz', indem die Beeinflussung der metabolischen Prozesse während der Hungerperiode nicht nur von der Fettmenge (Voit) abhängt, sondern wesentlich durch eine Vergiftung (Autointoxikation) bestimmt wird. Die prämortale Stickstoffausscheidung wird durch eine solche Intoxikation verursacht.

5) Eine Leukocytose wird während solcher Vergiftungsperioden beim Hunde beobachtet.

6) Verdünnung des Serums während der Intoxikation verhindert den Tod nicht.

7) Eine künstliche Erhöhung des antitryptischen Titers verlängert die Lebensdauer.

8) Der Eiweißumsatz während der Hungerperiode scheint intim durch das Antitrypsin beeinflußt zu sein. Ist der Titer hoch, so wird wenig Stickstoff ausgeschieden, dagegen wurde bei niedrigem Titer eine verhältnismäßig größere Ausscheidung konstatiert.

Bibliography.

1) Rosenthal, E., Folia serolog., Vol. 6, 1910, p. 285.
2) Zunz, E., Bull. de l'Acad. de Méd. de Belgique, T. 19, 1905, p. 729.
3) Schulz, E. N., Münch. med. Wochenschr., Jahrg. 60, 1913, p. 2512.
4) Heilner, E., und Poensgen, F., Münch. med. Wochenschr., Jahrg. 61, 1914, p. 402.
5) Jobling, J. W., and Stouse, S., Journ. exp. Med., Vol. 18, 1913, p. 591.
6) Voit, E., Zeitschr. f. Biol., Bd. 41, 1901, p. 113, 167, 502, 550.
7) Lusk, G., Elements of the Science of Nutrition, 2. edit., Philadelphia and London 1909, p. 75.
8) Schulz, F. N., Arch. f. d. ges. Physiol., Bd. 114, 1906, p. 462.
9) Ash, J. E., Arch. int. Med., Bd. 14, 1914, p. 8.
10) Jobling, J. W., and Petersen, W., Journ. exp. Med., Vol. 19, 1914, p. 480.
11) — — Journ. exp. Med., Vol. 20, 1914, p. 468.
12) — — Journ. exp. Med., Vol. 19, 1914, p. 459.
13) — — Arch. int. Med., Vol. 15, 1915, p. 786.
14) Braunstein, A., Berl. klin. Wochenschr., Jahrg. 47, 1910, p. 478.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Silberschmidt).]

Ueber das Auftreten der Gerinnungsreaktion im anaphylaktischen Shock und bei der Anaphylatoxinvergiftung.

Von **L. Hirschfeld** und **R. Klinger**.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. Dezember 1914.)

Im Verlaufe unserer Untersuchungen über das Wesen der Inaktivierung und der Komplementbindung haben wir zeigen können, daß der Zusatz bestimmter Suspensionen im Serum eine Globulinfällung bewirkt. In der vorhergehenden Mitteilung wurde über die Ergebnisse berichtet, welche eine eingehendere Analyse dieser Vorgänge mit Hilfe der gerinnungsphysiologischen Technik geliefert hat, wobei das Auftreten von Fällungserscheinungen an den Globulinen bestätigt werden konnte. Im Anschluß an Bordet haben wir die Vermutung ausgesprochen, daß die diesem Phänomen zugrunde liegenden Zustandsänderungen des Serums mit dessen Giftigwerden in Zusammenhang stehen; wir haben uns daher die Frage vorgelegt, ob es mit Hilfe der Komplementbindung und der Gerinnungsreaktion möglich sein würde, ähnliche Veränderungen des Serums, wie sie die erwähnten Eingriffe bewirken, auch im anaphylaktischen Shock festzustellen.

Die Versuche wurden an verschiedenen Tierarten (Hund, Kaninchen, Meerschweinchen) nach vorhergegangener aktiver (beim Meerschweinchen auch nach passiver) Sensibilisierung gegen Rinderserum ausgeführt. Außerdem wurde eine Anzahl Versuche mit Anaphylatoxin am Meerschweinchen gemacht.

In vielen der im folgenden mitgeteilten Versuche haben wir die Gerinnbarkeit des Blutes direkt bestimmt. Da das in gewöhnlichen Glasgefäßen aufgefangene Blut schnell und unregelmäßig gerinnt, haben wir zu den Bestimmungen der Gerinnungszeit anstatt komplizierter Apparate folgende Me-

thode angewandt, die bei Tieren mit schnell gerinnendem Blut gut brauchbare Resultate liefert; beim Menschen, dessen Blut meist viel langsamer gerinnt als dasjenige der meisten Laboratoriumstiere, wird durch Paraffin die Gerinnung häufig zu sehr hinausgezogen.

Man bereitet sich einige Uhrschälchen vor, welche auf ihrer Oberseite mit Paraffin überzogen wurden, indem man ein kleines Stückchen festen Paraffins auf dem Schälchen über einer Flamme zum Schmelzen bringt. Für jedes Schälchen wird ferner eine in verflüssigtes Paraffin getauchte Stecknadel vorbereitet. Das Blut wird in der Menge von $^1/_2$—1 ccm aus der Carotis (beim Menschen aus der Armvene) auf das Schälchen fließen gelassen; die Probe kommt an einen staubfreien Ort (am besten in feuchter Kammer, um die Verdunstung der Proben herabzusetzen) und wird zunächst in kurzen, später in langen Intervallen auf den Eintritt der Gerinnung geprüft. Dies geschieht durch langsames Durchziehen und Herausheben der Nadel; beim Beginn der Gerinnung bemerkt man das Auftreten eines zarten, bald reißenden Fibrinfadens. Mit dem Fortschreiten der Koagulation wird der Nadelkopf (welcher dauernd in der Blutprobe liegen bleibt und nur beim Untersuchen herausgehoben wird) immer dicker mit geronnenem Blut überzogen. Das Ende der Gerinnung wird notiert, wenn das Schälchen vertikal gestellt werden kann, ohne daß das Blut abfließt.

Bei diesem Vorgehen wird der Einfluß äußerer Momente, speziell der Gefäßwand, auf ein Minimum reduziert, der Ablauf der Gerinnung daher sehr verlangsamt. Unterschiede in der Gerinnbarkeit des Blutes kommen daher viel deutlicher zum Ausdruck als bei schnellerer Koagulation.

Zum Verständnis der folgenden Protokolle sei erwähnt, daß die in den Tabellen enthaltenen Zahlen die Gerinnungszeiten des Oxalatplasmas in Minuten angeben. Jede Tabelle enthält am Ende die Kontrollwerte (Cytozym und Serozym ohne Serumzusatz auf Thrombinbildung untersucht). Je größer die einzelnen Zahlen sind, je später somit die Gerinnung im Vergleich zur Kontrolle erfolgte, desto mehr Cytozym wurde durch das Serum zerstört; fl. bedeutet Flüssigbleiben des Plasmas, somit den stärksten Grad einer positiven Gerinnungsreaktion. Die in derselben Zeile angeführten Gerinnungszeiten beziehen sich stets auf die selbe am Beginn der Zeile angegebene Extraktdose.

Die Lipoidextrakte wurden meist in drei um das 2- und 4- (oder 3- und 6-)fache sich verringernden Dosen angewandt. Für Plättchenextrakte konnte wegen der wechselnden Wirksamkeit eine vergleichbare Dose nicht angegeben werden; die im Vorversuch geeignet befundene Konzentration wurde meist 3- und 9-fach abgestuft.

In betreff aller Einzelheiten sei auf die ausführliche Darstellung unserer Technik in der Deutsch. med. Wochenschr., 1914, No. 32, hingewiesen. Für Nachprüfungen möchten wir empfehlen, die Versuchstechnik zuerst mit luetischen Seren einzuüben.

Anaphylaxieversuche bei Kaninchen.

Vorbehandlung geschieht durch dreimalige Injektion von 1,0 ccm Rinderserum in Intervallen von 5 Tagen. Die den Shock auslösende Reinjektion ca. 10 Tage nach der III. Injektion.

Kaninchen 1.

Präzipitingehalt: 0,0001 Rinderserum wird noch angezeigt.

	Schälchengerinnung	Gerinnung des Oxalatplasmas nach Rekalzifieren
I. Entnahme (30 ccm) vor der Injektion	35′ beginnt 50′ fest	5′
Injektion von 5 ccm inaktivem Rinderserum		
II. Entnahme (20 ccm) 2′ später	bleibt flüssig	60′
III. Entnahme (20 ccm) 7′ später	bleibt flüssig	60′

Von jeder Blutprobe wurde ein Teil als Oxalatplasma, der Rest in gewöhnlichen Röhrchen zur Gerinnung gebracht. 0,1 der betreffenden Sera mit 0,1 der Extraktverdünnung $^1/_{40}$, $^1/_{80}$, $^1/_{160}$ geprüft.

Extrakt-verdünnung	Oxalatserum						Serum						Kontrolle: Extrakt allein
	aktiv			inaktiv			aktiv			inaktiv			
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	
$^1/_{40}$	2	25	fl.	3	25	8	9	fl.	fl.	2	fl.	fl.	2
$^1/_{80}$	3	90	fl.	3	45	8	25	fl.	fl.	3	fl.	fl.	2
$^1/_{160}$	8	fl.	fl.	3	fl.	20	30	fl.	fl.	5	fl.	fl.	3
													Serozym allein
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.

Kaninchen 2, 2200 g.

Präzipitingehalt: 1 : 1000 Rinderserum +
1 : 10 000 Rinderserum Spuren

	Schälchengerinnung
I. Entnahme (20 ccm) vor der Injektion	35′ beginnt 50′ fest
Injektion von 2,5 ccm inaktivem Rinderserum	intravenös
II. Entnahme (20 ccm) 2′ nach der Injektion	bleibt flüssig
III. Entnahme 5′ nach der Injektion	bleibt flüssig

Geprüft inaktiv mit 0,1 Lipoidextrakt der Verdünnung $^1/_{40}$, $^1/_{80}$, sowie mit Plättchenextrakt (verdünnt im Verhältnis 1 : 3).

Extrakt	Oxalatserum inaktiv						Serum inaktiv						Kontrolle: allein	
	I		II		III		I		II		III			
	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.
$^1/_{40}$	3	2	3	2	30	2	3	2	60	2	fl.	2	2	1
$^1/_{80}$	7	7	7	7	30	7	3	3	30	3	fl.	20	2	1
													Serozym allein	
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	—

Kaninchen 3, 2300 g.

Präzipitintiter 1 : 1000. Schälchengerinnung wie 1 und 2.

I. Blutentnahme 20 ccm vor der Injektion
Injektion von 2,5 ccm inaktivem Rinderserum
II. Blutentnahme: 2' später
III. Blutentnahme: 9' später.

Von Oxalatserum geprüft je 0,15, von Serum je 0,1 mit 0,1 einer Verdünnung des Merckschen Lipoidextraktes $^1/_{40}$, $^1/_{80}$, $^1/_{160}$, sowie des Plättchenextraktes, verdünnt 1 : 3 : 9.

Oxalatserum.

Extrakt	aktiv						inaktiv					
	I		II		III		I		II		III	
	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.
$^1/_{40}$	12	12	150	15	fl.	30	10	4	30	4	fl.	4
$^1/_{80}$	20	15	fl.	75	fl.	150	fl.	10	fl.	10	fl.	fl.
$^1/_{160}$	fl.	75	fl.	fl.	fl.	150	fl.	75±	fl.	fl.	fl.	fl.
Serum allein	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—

Serum.

Extrakt	aktiv						inaktiv					
	I		II		III		I		II		III	
	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.
$^1/_{40}$	75	15	150	75	fl.	150	12	4	fl.	5	fl.	17
$^1/_{80}$	fl.	15	fl.	75	fl.	fl.	75	4	fl.	10	fl.	fl.
$^1/_{160}$	fl.	30	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	10	fl.	fl.	fl.	fl.
Serum allein	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—

Prüfung der aktiven Oxalatsera auf Serozym: Oxalatsera abgestuft, dazu 1 ccm $CaCl_2NaCl$ und 1 Tropfen Plättchenextrakt.

Oxalatseren	I	II	III
0,5	2	8	40±
0,2	2	fl.	fl.
0,1	2	fl.	fl.

Kaninchen 4, 2500 g.

Injektion von Rinderserum in ein unvorbehandeltes Kaninchen.

	Schälchengerinnung
I. Blutentnahme 20 ccm	40' Beginn
Injektion von 3 ccm inaktivem Rinderserum	
II. Blutentnahme 2' nach der Injektion	40' Beginn
III. Blutentnahme 5' nach der Injektion	60' Beginn

Lipoidextrakt	Oxalatserum						Serum					
	aktiv			inaktiv			aktiv			inaktiv		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
$^1/_{40}$	4	4	4	4	6	6	4	4	4	6	5	6
$^1/_{80}$	6	6	5	40±	fl.	fl.	5	4	5	fl.	fl.	fl.
Ser. ohne Extr.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	20	20	fl.	fl.	fl.	fl.

Aus den mitgeteilten Protokollen geht hervor, daß die mit Serum vorbehandelten Kaninchen nach Reinjektion des Antigens eine Veränderung ihres Serums erfahren, die sich als vermehrte Hemmung gegenüber Lipoidextrakten äußert, so daß dieselben ihre Gerinnungsaktivität mehr oder weniger stark einbüßen. Diese Aenderung tritt bereits einige Minuten nach der Injektion ein und erreicht manchmal (siehe z. B. Kaninchen 1) Werte, welche denen eines stark positiven luetischen Serums nicht nachstehen. Die unter diesen Umständen auftretende positive Gerinnungsreaktion des Serums ist thermostabil, also auch im inaktiven Serum noch vorhanden. Die Hemmung äußert sich hauptsächlich gegenüber Lipoidextrakten, schwächer gegenüber wässerigen Plättchenextrakten. In dieser Hinsicht stimmen die Befunde gleichfalls mit denjenigen bei luetischen Seren überein, die auch mit Plättchencytozym weniger reagieren; doch war dieses Verhalten kein durchgehendes, da z. B. bei Kaninchen 3 auch eine Herabsetzung der Thrombinbildung nach Digerieren mit Plättchen deutlich war.

Bei einem Kaninchen wurde auch der Serozymgehalt austritriert und, wie aus Protokoll Kaninchen 3 ersichtlich, eine Abnahme gefunden (vor der Injektion gibt 0,1 ccm Serum mit 1 Tropfen Cytozym Gerinnung nach 2 Minuten, nach dem Shock blieb auch mit der doppelten Serummenge die Gerinnung aus). Eine wirkliche Abnahme des Serozyms nach dem Shock muß jedoch aus diesem Befund nicht notwendig angenommen werden, da das Serum eben eine cytozymzerstörende Wirkung aufweist, die in diesem Falle auch gegenüber Plättchen sich geltend machte.

Meerschweinchenanaphylaxie.

Es wurden insgesamt 8 sensibilisierte und 2 Kontrollmeerschweinchen geprüft. Bei 6 Tieren wurde das Serum sowohl vor wie nach der Injektion untersucht (in den Protokollen als „vor“ und „nach“ bezeichnet), bei 2 Tieren wurde eine vorherige Blutentnahme vermieden (nur „nach“). In Versuch III wurden die Sera sowohl mit Lipoid- wie mit Plättchenextrakten geprüft. Die Sera werden regelmäßig inaktiviert, aktive Sera ergeben wegen Eigenfällung oder zu starker Hemmung weniger deutliche Resultate. Von den 8 Meerschweinchen zeigten 7 (Meerschweinchen 6 in Versuch I ist negativ) eine Verstärkung der Hemmung gegenüber Lipoid-

extrakt, also eine positive Gerinnungsreaktion. Auch hier äußert sich die Hemmung gegenüber Lipoid quantitativ in stärkerem Maße als gegenüber Plättchenextrakt. Es fällt namentlich auf, daß die mit größeren Extraktdosen versetzten Röhrchen später gerinnen, d. h. die positive Reaktion zum Vorschein kommen lassen (Versuch I a—c). Die Kontrollmeerschweinchen zeigten unter dem Einfluß der Injektion keine wesentliche Veränderung.

Meerschweinchen 4 (Protokoll III) starb nicht akut und wurde nach 1 Stunde getötet; auch dort konnte ein zwar weniger starker, aber deutlicher Ausschlag nachgewiesen werden.

Ein Teil der Versuche wurde so angesetzt, daß das Blut in Oxalat aufgefangen und das Plasma abzentrifugiert und inaktiviert wurde. Hierauf wurde rekalzifiert und der Oxalatniederschlag gleichzeitig mit der beim Inaktivieren aufgetretenen Trübung des Plasmas abzentrifugiert. So behandelte Plasmen erwiesen sich jedoch zur Anstellung der Reaktion weniger geeignet; wir haben zwar auch in diesen Proben zum Teil deutliche Ausschläge gesehen, jedoch nicht so regelmäßig wie im Serum gleich behandelter Tiere.

Die Sensibilisierung der Tiere geschah durch subkutane Injektion von 0,05 ccm Rinderserum; der Shock wurde durch Injektion von 0,2—0,5 ccm inaktiven Rinderserums in 1,0 ccm NaCl ausgelöst. Für jede Blutprobe wurde 1—2 ccm aus der Carotis aufgefangen. Probe II („nach") wurde 2—5 Minuten nach der Reinjektion entnommen. Um vollständige Gerinnung des Blutes zu erzielen, blieben die Blutproben ca. 1 Stunde bei 37° stehen.

Protokoll I.

No. des Tieres	1		2	3		Kontrolle: Extrakt allein
Gewicht d. Tieres	300 g		320 g	330 g		
Art der Vorbehandlung	vor 14 Tagen 0,05 Rinderserum subk.		wie 1	unvorbehandelt		
Art der Nachbehandlung	0,5 Rinderserum intravenös		wie 1	wie 1		
Art des Serums	vor	nach	nach	vor	nach	
Extrakt 0,1 der Verd. $^1/_{40}$	14	60	15	10	10	1
„ $^1/_{80}$	5	14	5	5	5	1
„ $^1/_{160}$	5	10	5	5	5	1
						Serozym allein
Ser. ohne Extr.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.

Protokoll II[1]).

No. des Tieres	4			5				6		7[2])				8				Kontrolle: Extrakt allein	
Gewicht d. Tieres	380 g			350 g				340 g		360 g				350 g					
Art der Vorbehandlung	vor 14 Tagen 0,05 Rinderserum subk.			wie 4				wie 4		wie 4				unvorbehandelt					
Art der Nachbehandlung	0,3 Rinderser. intravenös			wie 4				wie 4		wie 4				wie 4					
Art des Serums	vor		nach	vor		nach		nach		vor		nach		vor		nach			
	Lip.	Pl.	Lip.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.
	4	4	fl.	4	2	11	3	fl.	5	4	—	15	—	6	—	4	—	1	2
	2	4	9	4	2	5	3	fl.	13	2	5	6	6	6	6	4	4	1	2
	2	8	—	4	2	5	16	13	fl.	2	5	6	6	5	6	6	8	1	3
																		Serozym allein	
	fl.	fl.	fl.	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—

Protokoll III.

No. des Tieres	9		10		Kontrolle: Extrakt allein
Gewicht d. Tieres	290 g		320 g		
Art der Vorbehandlung	vor 14 Tagen 0,05 subk.		wie 9		
Art der Nachbehandlung	0,2 intravenös		wie 9		
Art des Serums	vor	nach	vor	nach	
Lipoidextrakt Verd. 1/40	5	fl.	6	fl.	2
,, 1/80	6	fl.	6	fl.	2
,, 1/160	23	fl.	7	fl.	3
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.

Anaphylatoxinversuche an Meerschweinchen.

Anaphylatoxin wird durch Vermischen von 2 Teilen Meerschweinchenserum mit 1 Teil Bakterienaufschwemmung (2 Stunden bei 37°, Abzentrifugieren etc.) hergestellt. Bei einem Teil der Tiere wurde zuerst 1—2 ccm Blut aus der Carotis entnommen (Probe „vor“), dann das Gift in die

1) Verdünnung der Lipoidextrakte 1:40, 1:80, 1:160; Verdünnung der Plättchenextrakte 1:3:9.

2) Starker Shock, doch Erholung. Nach 1 Stunde durch Kopfschlag getötet, Blut aus dem Herzen gewonnen.

Jugularis injiziert; 2—4 Minuten nach der Injektion erfolgte die zweite Entnahme (Probe „nach“), in der Regel ebenfalls aus der Carotis. Wenn die erste Blutentnahme unterlassen wurde, ist „nur nach“ vermerkt. Das Blut wird im Shock regelmäßig durch die Asphyxie dunkel. Da wir die Tiere meist bis zur zweiten Injektion aufgebunden ließen, diente uns die Farbe des Blutes als Indikator für die Intensität des Shocks. Diese zweite Probe gerinnt langsamer[1]) und zeigt nach dem Zentrifugieren nicht selten teilweise Nachgerinnungen.

Protokoll I.

Serum inaktiv. Lipoidextraktverdünnungen. In No. 1 wird eine tödliche, in No. 2 eine untertoxische Giftdose injiziert (Blut bei No. 2 hellrot geblieben). Tier No. 3 erhält 1,5 ccm einer 10-proz. Lösung von Pepton Witte.

No. des Tieres	1	2		3		Kontrolle: Extrakt allein
Gewicht d. Tieres	300 g	350 g		380 g		
Giftmenge	3 ccm	1 ccm		1,5 ccm 10 % Pepton		
Art des Serums	„nur nach“	„vor“	„nach“	„vor“	„nach“	
Extrakt 1/40	fl.	60	fl.	22	17	5
„ 1/80	fl.	25	fl.	18	17	6
„ 1/160	fl.	7	fl.	12	10	7
						Serozym allein
Ser. ohne Extr.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.

Protokoll II.

Meerschweinchen No. 4, 300 g, erhält 2 ccm Anaphylatoxin (hergestellt: zu 2,0 ccm Serum 0,1 dichte Bakterienaufschwemmung). Atemnot, nur schwache Krämpfe. Getötet nach 8 Minuten durch Kopfschlag, Blutentnahme „nach“ aus dem Herzen. Inaktives Serum, geprüft mit Lipoidextrakt Merck und Plättchenextrakt (der letztere in der zweiten Reihe āā, in der dritten Reihe 4-fach mit NaCl-Lösung verdünnt).

Extrakt	„vor“		„nach“		Kontrolle	
	Lipoid	Plättchen	Lipoid	Plättchen	Lipoid	Plättchen
1/40	12	3	12	35	1	2
1/80	7	4	12	70±	2	4
1/160	5	5	70±	fl.	4	12
					Serozym allein	
Serum allein	fl.	—	fl.	—	—	fl.

1) Diese Verzögerung der Gerinnung muß wenigstens zum Teil auf den größeren CO_2-Gehalt des Blutes zurückgeführt werden.

Protokoll III.

No. des Tieres	5								6								Kontrolle: Cytozym allein	
Gewicht d. Tieres	340 g								300 g									
Art u. Menge der injiz. Substanz	3 ccm Anaphylatoxin								3 ccm Anaphylatoxin									
Art des Serums	„vor“				„nach“				„vor“				„nach“					
	aktiv		inaktiv		aktiv		inaktiv		aktiv		inaktiv		aktiv		inaktiv			
	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.
	20	15	5	3	20	11	11	3	12	17	4	2	35±	11	19	4	1	1
	14	14	5	2	14	5	14	3	12	12	4	2	45±	6	10	2	2	2
	5	5	—	—	35	5	19	3	15	6	4	2	fl.	3	16	3	$2^1/_2$	$2^1/_2$
	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	fl.	—	—	—	fl.	—
Schälchengerinnung	8′ fest				20′ beginnt 50′ fest				6′ fest				2′ beginnt! 15′ fest					

Protokoll IV.

Anaphylatoxin- (7 und 8) und Peptoninjektion (9). Kontrolltiere mit Injektion von Normalserum ($^1/_3$ Volumen mit NaCl-Lösung verdünnt) (10), sowie ohne Injektion (11). Serum aktiv und inaktiv geprüft mit Lipoidextrakt Merck. Tier No. 8 erhält eine kleine Giftdose und zeigt keine deutlichen Lungenerscheinungen, doch etwas dunkleres Blut.

No. des Tieres	7				8			
Gewicht d. Tieres	310 g				280 g			
Art und Menge der Injektion	3,5 ccm Anaphylatoxin				1,0 ccm Anaphylatoxin			
Art des Serums	aktiv		inaktiv		aktiv		inaktiv	
	„vor“	„nach“	„vor“	„nach“	„vor“	„nach“	„vor“	„nach“
Extrakt $^1/_{40}$	—	—	6	20	—	—	4	12
„ $^1/_{80}$	25	20	6	25	20	15	5	8
„ $^1/_{160}$	fl.	fl.	12	fl.	fl.	fl.	5	25±
Serum allein	20	fl.	fl.	fl.	5	fl.	fl.	fl.

No. des Tieres	9		10				11	
Gewicht d. Tieres	270 g		230 g				250 g	
Art und Menge der Injektion	1 ccm 10-proz. Pepton		3 ccm Normalserum				θ	
Art des Serums	—		aktiv		inaktiv		aktiv	
	„vor“	„nach“	„vor“	„nach“	„vor“	„nach“	„vor“	„nach“
Extrakt $^1/_{40}$	5	3	—	—	12	4	—	—
„ $^1/_{80}$	7	3	20	30	11	11	35	12
„ $^1/_{160}$	fl.	$3^1/_2$	fl.	fl.	fl	11	fl.	fl.
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.

Wir haben somit bei 7 Meerschweinchen teils volltoxische, teils unterwirksame Dosen Bakterienanaphylatoxins injiziert und das vor und nach dem Shock gewonnene Serum hinsichtlich der Gerinnungsreaktion verglichen. In allen Versuchen wurde hierbei mit inaktiven Seren ein deutlich positives Resultat beobachtet; das aktive Serum zeigte die Hemmung des Extraktcytozyms nicht immer deutlich, ja manchmal ist eine leichte Beschleunigung der Gerinnung zu bemerken (No. 7 und 8).

Die cytozymzerstörende Wirkung des Serums kam in Versuch 5 und 6 (Protokoll III) nur gegenüber Lipoidextrakt zur Geltung, während Plättchenextrakte von beiden Blutproben (vor und nach dem Shock) gleich beeinflußt wurden. In Versuch 4 (Protokoll II) war dagegen eine Hemmung auch gegen Plättchen ausgesprochen.

In Versuch 2, 4 und 8, in welchen untertoxische Dosen injiziert wurden, trat gleichwohl eine deutlich positive Reaktion ein, obwohl die Symptome der Anaphylatoxinvergiftung (unter anderen die dunkle Verfärbung des Blutes) nur schwach erkennbar waren oder fehlten. Die Gerinnungsreaktion erweist sich somit als ein feinerer Indikator für die im Blute stattfindende Veränderung als die bekannten Shocksymptome, da sie häufig auch dann vorhanden ist, wenn die letzteren nicht ausgesprochen sind.

Passive Anaphylaxie (Meerschweinchen).

Kaninchen werden durch dreimalige Injektion von je 1,0 ccm Rinderserum sensibilisiert. Titer 1 : 10 000. Meerschweinchen von 200—300 g erhalten intraperitoneal $^{1}/_{2}$—1 ccm des inaktivierten Serums so vorbehandelter Kaninchen. Nach 1—24 Stunden erfolgt die Reinjektion (0,2 ccm Rinderserum). Auch hier wurde in mehreren Fällen eine Blutprobe vor der zweiten Injektion aus der Carotis entnommen. Die einzelnen Proben bleiben 1 Stunde stehen, werden hierauf zentrifugiert und das erhaltene Serum bei 56° 30—40 Minuten inaktiviert.

(Siehe die Protokolle I und II auf p. 245.)

Auffallenderweise gaben die passiv präparierten Meerschweinchen in vielen Versuchen hinsichtlich des Shocks unregelmäßige Resultate. Die Durchsicht der Protokolle ergibt, daß die positive Gerinnungsreaktion (wenigstens in Form einer

Protokoll I.

No. des Tieres	I		II	III	IV		V		VI		VII	
Gew. des Tieres	260 g		150 g	200 g	220 g		230 g		205 g		190 g	
Art der Vorbehandlung	vor 20 Std. 0,7 Kan.-Präz. perit.		wie I	wie I	vor 5 Std. 0,7 Präzip. periton.		vor 2 Std. 0,7 Präzip. periton.		vor 1 Std. 0,7 Präzip. periton.		—	Kontrolle: Extr. allein
Art der Nachbehandlung	0,2 Rinderserum intravenös		wie I	wie I	wie I		wie I		wie I		0,7 Präzip. + 0,2 Rinderser. gleichzeitig	
Symptome	keine Lungenstarre, keine Krämpfe		typ. Shock, Lungenstarre, †	typ. Shock, Lungenstarre, †	Blut hell, keine Starre		Blut hell, keine Lungenstarre		Blut hell, keine Lungenstarre		etwas krank, Kopfschlag getötet, leichte Starre	
Art d. Serums	„vor“ (Carotis)	„nach“ (Herzbl.)	„nach“ (Herzblut)	„nach“ (Herzblut)	„vor“ (Carotis)	„nach“ (Carotis)	„vor“ (Carotis)	„nach“ (Carotis)	„vor“ (Carotis)	„nach“ (Carotis)	„nach“ (Herzblut)	
Extrakt 1/40	3	3	7	40±	2	2	3	2	2	2	4	3
„ 1/80	4	10	fl.	fl.	6	3	7	6	7	12	8	4
„ 1/160	9	fl.	fl.	fl.	40	30	16	60	13	30	fl.	4
	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	—

Protokoll II.

No. des Tieres	VIII		IX		X	XI		
Gewicht d. Tieres	200 g		210 g		230 g	250 g		
Art der Vorbehandlung	vor 20 Std. 0,7 Präzipit. intraperitoneal		wie VIII		wie VIII	nicht vorbehandelt		Kontrolle: Extrakt allein
Art der Nachbehandlung	0,2 inakt. Rinderserum intravenös		wie VIII		wie VIII	wie VIII		
Symptome	Lungenstarre schwach ausgesprochen		Lungenstarre, †		Krämpfe, geringe Lungenstarre	keine Erscheinungen		
Art des Serums	„vor“ (Carotis)	„nach“ (Carotis + Herzblut)	„vor“ (Carotis)	„nach“ (Carotis + Herzblut)	„nach“ (Herzblut)	„vor“ (Carotis)	„nach“ (Carotis)	
Extrakt 1/40	3	6	3	6	7	3	3	2
„ 1/80	4	6	4	6	6	3	3	2
„ 1/160	4	10	4	10	15	4	4	2
	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.

stärkeren Hemmung des Serums nach der Reinjektion als vor derselben) auch bei schwachem Shock meistens deutlich war. Wurde das Antiserum nur kurze Zeit vor der Injektion des Antigens injiziert, so war die Gerinnungsreaktion nicht oder nur sehr schwach vorhanden. Gleichzeitige Injektion von Antiserum und Antigen hat ebenfalls nur einen kleinen Ausschlag gegeben.

Anaphylaxie beim Hund.

Versuch a. Hund von 10 kg Gewicht, zweimal vorbehandelt im Intervall von 7 Tagen. Reinjektion 3 Wochen nach der letzten Injektion (10 ccm Rinderserum).

Probe I wird vor der Injektion aus der Carotis entnommen und gerinnt nach 12 Minuten.

Probe II, 5 Minuten nach der Injektion, ist ungerinnbar.

Von beiden Proben wird ein Teil in Na-Oxalat ($^1/_{10}$ Volumen) aufgefangen, scharf zentrifugiert und aus dem erhaltenen Oxalatplasma durch Rekalzifieren Serum gewonnen (Oxalatserum I und II; Probe II gerinnt verspätet).

Gerinnungsversuch: Je 0,1 Serum wird mit $^1/_{40}$, $^1/_{80}$, $^1/_{160}$ Merckschem Herzextrakt (je 0,1 ccm) digeriert und hierauf das Cytozym in der üblichen Weise austitriert.

Extrakt	Oxalatserum				Kontrolle: Extrakt
	aktiv		inaktiv		
	I	II	I	II	
$^1/_{40}$	4	4	3	30±	1
$^1/_{80}$	4	90	4	fl.	$1^1/_2$
$^1/_{160}$	10	fl.	$4^1/_2$	fl.	2
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.	—

Das Plasma der ungerinnbaren Probe II (ohne Oxalat) zeigte vollständigen Komplementschwund. Die Wassermannsche Reaktion gab keine deutlichen Ausschläge, da das vor dem Shock erhaltene Serum bereits positiv reagierte; doch war eine Zunahme des antikomplementären Vermögens im Sinne einer Eigenhemmung ausgesprochen. Durch Verdünnung mit physiologischer NaCl-Lösung gerann Blut II spontan nach 40 Minuten (1 : 3) bis 75 Minuten (āā); am schnellsten durch Zusatz von destilliertem Wasser (āā). Auch Cytozymzusatz bewirkte prompte Gerinnung (10 bis 20 Minuten). Fertiges Thrombin, zu Plasma II zugesetzt, ergab eine merkliche Verzögerung gegenüber Kontrollplasma, Plasma II enthielt somit Antithrombin (12 Minuten gegenüber 2 Minuten).

Hund b gleich behandelt wie in Versuch a.

Es wurden Proben entnommen:

I. vor der Injektion gerinnt 10′
II. 3′ nach Injektion gerinnt 6′
III. 10′ „ „ } bleibt flüssig; wird 3 Std. später abzentrifugiert,
IV. 35′ „ „ } wobei das Serum wiederholt nachgerinnt.

Gerinnungsreaktion mit aktiven Seren aus Oxalatplasmen I—IV, sowie mit inaktiven Seren (aus dem gesamten Blut gewonnen). Merckscher Lipoidextrakt und wässeriger Plättchenextrakt.

Oxalatserum, aktiv.

Extrakt	I		II		III		IV	
	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.	Lip.	Pl.
$^1/_{40}$	1	1	1	1	120	1	1	1
$^1/_{80}$	8	2	2	2	fl.	5	4	2
$^1/_{160}$	fl.	2	18	2	fl.	9	120	2
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.

Serum, inaktiv.

Extrakt	I Lip.	I Pl.	II Lip.	II Pl.	III Lip.	III Pl.	IV Lip.	IV Pl.
$^1/_{160}$	3	3	3	3	10±	3	3	3
Serum allein	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.

Die Versuche lassen somit das Auftreten einer positiven Gerinnungsreaktion deutlich erkennen; dieselbe war speziell im Versuch a sehr ausgesprochen. Bei Hund b trat unmittelbar nach dem Shock eine Phase erhöhter Gerinnbarkeit des Blutes ein; das daraus erhaltene Serum wirkte im Gerinnungsversuch schwächer hemmend als das vor dem Shock entnommene; 10 Minuten nach der Injektion des Antigens trat auch bei diesem Versuch eine positive Gerinnungsreaktion auf, die aber nach 35 Minuten bereits verschwunden war; dies ist besonders hervorzuheben, da das Blut zu dieser Zeit (also 35 Minuten post injectionem) noch ungerinnbar war; diese Beobachtung zeigt, daß die Gerinnungsreaktion mit dem Antithrombingehalt des Blutes nicht direkt in Zusammenhang stehen kann. Mit Plättchenextrakt wurde keine Abschwächung des Cytozyms erzielt.

Da nach intravenöser Injektion von Pepton namentlich beim Hunde ein dem anaphylaktischen ganz gleicher Symptomenkomplex zu beobachten ist, haben wir untersucht, ob im Blute so behandelter Tiere gleichfalls eine positive Ge-

rinnungsreaktion angetroffen würde. Wie die folgenden Protokolle zeigen, ist in den Serumproben, welche aus dem verzögert gerinnenden Blute nach der Peptoninjektion erhalten wurden, eine Zunahme der hemmenden Wirkung gegen Lipoidextrakt deutlich, wenn auch nur in mäßigem Grade nachweisbar. Wurde das Serum nicht durch die spontane Gerinnung des Vollblutes, sondern durch Rekalzifieren von gut zentrifugiertem Oxalatplasma erhalten, so fehlte eine positive Gerinnungsreaktion, es trat vielmehr im Vergleich zu dem vor der Peptoninjektion auf dieselbe Weise gewonnenen Kontrollserum eine beschleunigte Gerinnung auf. Der je nach der Art der Serumgewinnung andersartige Befund dürfte darauf hinweisen, daß nach Peptoninjektion zwei verschiedene Vorgänge im Blute ablaufen, von welchen der eine hemmend, der andere aber fördernd bei der Gerinnungsreaktion eingreift. Im Serum, welches der Gerinnung des gesamten Blutes entstammt, überwiegt der hemmende, im Oxalatserum der fördernde Faktor. Was die Natur des letzteren anlangt, so sei darauf verwiesen, daß manche Albumosen und Peptide in bestimmten Dosen auf die Gerinnung beschleunigend wirken (Zunz und György, Arch. internat. de Physiol., Vol. 14, 1914, No. 4)[1]; es ist daher nicht unwahrscheinlich, daß die große Menge der ins Blut gebrachten Körper dieser Gruppe, welche sich nach der Injektion im Kreislauf befinden, das Auftreten der Gerinnungsreaktion verdecken. Warum letzteres im Oxalatserum mehr hervortritt als im gewöhnlichen Serum, kann vorläufig nicht erklärt werden. Es sei aber erwähnt, daß auch manche andere Serumreaktionen anders verlaufen, wenn hierzu Serum aus zellfreiem, rekalzifiertem Plasma verwendet wird.

Peptoninjektion im Hund.

2 Hunde von ca. 20 kg Gewicht erhalten intravenös 18 resp. 45 ccm 10-proz. Peptonlösung (Witte). Unmittelbar vor der Injektion, sowie 3 und 14 Minuten nach derselben wird aus der freigelegten Carotis je eine Blutprobe entnommen (bezeichnet als I, II, III), wovon ein Teil jeweils im paraffinierten Gefäß in Oxalatlösung aufgefangen wird.

---

1) Eine genauere Analyse der bei der Gerinnung beteiligten Faktoren, wie wir sie gemeinsam mit Dr. Herzfeld in Angriff genommen haben, wird vermutlich gestatten, diese Beziehungen aufzuklären. Siehe auch Herzfeld und Klinger, Biochem. Zeitschr., Bd. 70 (71), 1915.

Die Gerinnungszeiten im Glasgefäß (nicht paraffiniert) waren:

	Probe entommen: vor der Injektion (I)	3′ nach d. Inj. (II)	14′ nach der Inj. (III)
Hund a	10′	10′	1—2 Std.
Hund b	15′	4—6 Std.	3—4 Std.

Die Gerinnung des nach der Injektion erhaltenen Blutes war somit deutlich herabgesetzt, mehrere Proben zeigen beim Zentrifugieren noch Nachgerinnungen (ein Teil des bereits zellfreien Serums wird nochmals fest).

Die in Oxalat aufgefangenen Blutproben werden sofort zentrifugiert (1 Stunde) und hieraus durch Rekalzifieren Serum gewonnen. Alle Proben gerinnen nach Zusatz von $CaCl_2$-Lösung in wenigen Minuten, wobei II und III eine geringfügige Verspätung zeigen.

Die direkt erhaltenen sowie die aus den Oxalatplasmen dargestellten Seren werden zum Teil 40 Minuten bei 58° inaktiviert (eine längere Erhitzung war in diesem Falle erforderlich, da im Serum der vor der Injektion entnommenen Blutproben relativ große Mengen Cytozym vorhanden waren).

Die folgende Tabelle zeigt die Gerinnungszeiten der einzelnen Serumproben nach Digerieren mit fallenden Mengen von Lipoidextrakt. Die aktiven Seren gaben ähnliche, meist noch deutlichere Werte; wir verzichten auf ihre Wiedergabe, da diese Resultate eventuell durch Antithrombinbeimengung bedingt sein könnten und daher nicht beweisend sind. — Bei beiden Hunden wurde noch eine vierte Blutprobe gewonnen, welche aufgefangen wurde, als bereits 1—1½ l Blut aus der Carotis abgelaufen waren, ca. 20 Minuten nach der Peptoninjektion. Diese Blutproben gerannen schneller als die vorhergehenden, bei Hund a nach 10 Minuten, bei Hund b nach etwa 1 Stunde.

	Sera, inaktiv								Kontrolle
	Hund a				Hund b				
Probe	I	II	III	IV	I	II	III	IV	
Extrakt 1/40	2	3	3	1½	2	1½	1½	1½	1½
„ 1/120	4	8	7	4	5	5	2	1½	1½
„ 1/360	10	fl.	fl.	45	40	fl.	40	15	2
Serum allein	40	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	Serozym allein fl.

	Oxalatsera, inaktiv						Kontrolle
	Hund a			Hund b			
Probe	I	II	III	I	II	III	
Extrakt 1/40	3	2	2	2	1½	1½	1½
„ 1/120	3	2½	2½	3	2	1½	2
„ 1/360	130	4	20	25	6	6	2½
ohne Extrakt	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	fl.	Serozym allein fl.

Die Tabellen lassen eine Hemmung des im Extrakt enthaltenen Cytozyms in den nach der Peptoninjektion gewonnenen Seren deutlich erkennen. Bei Hund a war die positive Gerinnungsreaktion auch noch bei der letzten, nach starker Blutentziehung erhaltenen Probe angedeutet, während sie bei Hund b in dieser Endprobe bereits einem entgegengesetzten Zustande, nämlich einer im Vergleich zum Normalblut (I) herabgesetzten Hemmung gewichen war. Diese verminderte resp. aufgehobene Hemmung des nach großem Blutverlust erhaltenen Serums hängt vermutlich mit Veränderungen des Blutes zusammen, welche auch ohne vorherige Injektion eines Antigens zu beobachten sind (s. u.).

Bei einigen unserer Anaphylaxieversuche (speziell bei Kaninchen und Hund) wurde untersucht, ob der Cytozymgehalt und das Cytozymierungsvermögen[1]) im anaphylaktischen Shock eine Aenderung erfahren. Gleichzeitig wurde die Gerinnbarkeit des Blutes mit der Paraffinschälchenmethode und der Komplementgehalt geprüft.

Es ergab sich neben herabgesetzter Gerinnbarkeit und Verminderung des Komplementgehaltes eine stets deutliche Abschwächung des Vermögens, Bakterien- oder Kaolinemulsionen zu cytozymieren, sowie meist eine Abnahme des direkt nachweisbaren Cytozyms (geprüft mit Seren aus Oxalatplasmen); hierbei ging der Verlust der Cytozymierung dem Komplementschwund, nicht aber der direkten Blutgerinnbarkeit und dem spontanen Cytozymgehalt der Seren parallel. Bloße Blutentziehungen ohne Antigeninjektion wirken in entgegengesetzter Richtung, indem hierbei eine beschleunigte Blutgerinnung und eine Zunahme des Cytozyms im Serum die Regel sind; die Cytozymierungsfähigkeit (im Oxalatplasma) zeigt dagegen keine Abnahme.

Da die Zunahme der Blutgerinnbarkeit nach Blutentziehungen noch wenig bekannt ist — sie wird in der Literatur zwar hier und da erwähnt, wurde aber mit der neueren Technik unseres Wissens noch nicht eingehender untersucht — so seien im folgenden einige diesbezügliche Protokolle mitgeteilt.

---

1) d. h. die Fähigkeit eines Serums, gewissen Suspensionen nach Digerieren mit dem betreffenden Serum und Abzentrifugieren Cytozymcharakter zu verleihen (siehe unsere Mitteilung II, diese Zeitschr., Bd. 20).

Kaninchen A 2040 g, B 2400 g, C 1800 g. Wiederholte Blutentnahme aus der Carotis. Gerinnungszeit im Paraffinschälchen.

	Kan. A				Kan. B				Kan. C		
Probe	I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III
Menge in ccm	30	15	13	35	25	25	25	14	15	13	13
Zeit der Entnahme	0′	5′	10′	17′	0′	3′	14′	18–20′	0′	3′	6′
Gerinnungszeit	180—250′	110—180′	12—45′	7—38′	45—60′	38—50′	10′	5′	13′	13′	25—70′

Cytozymierung von Bakterien und Kaolin. 0,5 Oxalatplasma + 0,5 der Suspension 1 Stunde digeriert; dann zentrifugiert, gewaschen und mit Serozym und Ca-Lösung auf Thrombinbildung geprüft.

Kaninchen A.

Probe	I	II	III	IV
Bakterien	$7^1/_2$	$7^1/_2$	$7^1/_2$	10
Kaolin	80	80	60	90

Die zugehörigen, aus Blut gewonnenen Sera enthielten keine direkt nachweisbaren Mengen von Cytozym oder Serozym. Eine Bestimmung des Cytozyms durch Bakterien ergab folgende Werte: Probe I: 40′ ±, II: 120′ ±, III: 80′, IV: 14′.

Kaninchen C.

Probe	I	II	III
Bakterien	5	$5^1/_2$	$5^1/_2$
Kaolin	10	9	15
Oxalatserum 0,3 allein	35	40±	60±

Eine Prüfung auf Komplementgehalt ergab für die 3 Proben keinen Unterschied.

Wie die mitgeteilten Protokolle zeigen, k o n n t e n w i r s o w o h l b e i a k t i v e r u n d p a s s i v e r A n a p h y l a x i e w i e b e i d e r A n a p h y l a t o x i n v e r g i f t u n g e i n e Z u s t a n d s ä n d e r u n g d e s S e r u m s f e s t s t e l l e n, w i e w i r s i e a u c h i m l u e t i s c h e n S e r u m n a c h g e w i e s e n h a b e n; dieselbe bedingt, daß derartige Sera zugesetztes Cytozym (hauptsächlich in Form von Lipoidemulsionen) seiner Gerinnungsaktivität berauben. Diese Fähigkeit des Serums ist auch nach dem Inaktivieren desselben vorhanden; sie ist bereits wenige Minuten

nach dem Shock nachweisbar und scheint zu den feineren Symptomen der Anaphylaxie zu gehören, da wir sie mehrmals auch dann antrafen, wenn nach Reinjektion des Antigens die typischen Zeichen des Shocks (Atemnot, Lungenblähung etc.) nicht deutlich ausgeprägt waren.

Entsprechend unserer Fragestellung haben wir bei einer Anzahl von anaphylaktischen Seren auch auf Auftreten einer positiven Wassermannschen Reaktion untersucht. Es ergab sich, daß eine stärkere antikomplementäre Wirkung den Shockseren entweder ganz fehlte (in den Fällen, wo auch die Gerinnungsreaktion nur schwach vorhanden war) oder im Sinne einer vermehrten Eigenhemmung zum Ausdruck kam, während eine echte W.R. nicht beobachtet wurde.

Die Untersuchung einer Anzahl eigenhemmender menschlicher Seren mit der Technik der Gerinnungsreaktion hat uns gezeigt, daß dieselben fast durchgehend wie luetische Sera reagieren; auch die klinischen Befunde und die Anamnese sprachen in vielen Fällen für Lues, so daß wir die vermehrte Eigenhemmung mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine ähnliche Veränderung des Blutes beziehen dürfen, wie sie die positive W.R. und G.R. verursacht. Auch der Komplementschwund, welcher in eigenhemmenden Seren stets deutlich ausgeprägt ist, scheint uns auf die gleiche Ursache zurückzugehen. Immerhin bleibt die Tatsache bestehen, daß im anaphylaktischen Serum die G.R. und die W.R. nicht in gleicher Weise, wie wir es bei Lues angetroffen haben, parallel gehen, und es erhebt sich daher die Frage, ob die bei Anaphylaxie gefundene G.R. gleichwohl als wesensgleich mit derjenigen des luetischen Serums gelten kann.

In der vorhergehenden Mitteilung haben wir unsere vorläufigen Anschauungen vom Wesen der G.R. dargestellt. Dieselbe kommt durch bestimmte Beziehungen zustande, welche zwischen Serum und Lipoidextrakt bestehen (Fällungserscheinungen und dadurch bedingter Verlust der Gerinnungsaktivität des Lipoids). Die neu entstandenen Komplexe können in gewissen Fällen komplementbindende Eigenschaften haben, somit gleichzeitig auch eine positive W.R. geben (Lues). Für das Zustandekommen der positiven G.R. ist dieser sekundäre Vor-

gang der Komplementabsorption jedoch bedeutungslos, denn die Gerinnungsreaktion ist der direkte Ausdruck einer am Lipoid stattfindenden Veränderung; die Komplementbindung scheint dagegen noch gewisse andere, uns bis jetzt nicht näher bekannte Eigenschaften des Serum-Lipoid-Komplexes vorauszusetzen; derselbe dürfte unter anderem bei verschiedenen Tierarten ungleiche Beschaffenheit aufweisen[1]) etc., wodurch gewisse Unterschiede in der Reaktion bedingt sein mögen. Diese Ueberlegungen zeigen, daß wir trotz dem Fehlen einer deutlichen W.R. bei Anaphylaxie annehmen können, daß die hierbei beobachtete G.R. mit der bei Lues auftretenden identisch sein kann. Es liegt uns aber fern, eine derartige Identität beider Reaktionen, so wahrscheinlich sie auch erscheint, als erwiesen hinzustellen. Sicher ist nur, daß die G.R. eine ähnliche Reaktionsfähigkeit des Shockserums gegenüber Lipoiden anzeigt, wie sie auch das luetische Serum besitzt. Ob diese Reaktionsfähigkeit in beiden Fällen auf demselben Mechanismus beruht, können wir nicht entscheiden, solange wir die Beziehungen von Serum und Lipoid nur durch das Endergebnis, d. h. durch die Zerstörung des Cytozyms zum Ausdruck bringen können. Aus diesem Grunde ist es auch nicht möglich, die sich hier aufdrängende Frage zu diskutieren, ob die Reaktion bei Lues etwa auf einen Zustand chronischer Anaphylaxie (im weitesten Sinne) zurückzuführen sei. Erst wenn Untersuchungen der Anaphylaxie des Menschen (sowohl nach akuten Symptomen wie bei den protrahierten, mit Anaphylaxie verwandten Zuständen, wie Serumexanthemen etc.), welche in der uns interessierenden Richtung noch nicht vorliegen, gemacht sein werden, wird diese Diskussion möglich sein[2]).

In vielen Protokollen konnten wir die Herabsetzung der Gerinnbarkeit des Blutes bei Anaphylaxie bestätigen. Es fragt sich, ob diese Erscheinung auf die Hemmung, welche sich in

---

1) Siehe die diesbezüglichen Untersuchungen von M. Brandt, Deutsche med. Wochenschr., 1915, No. 31, p. 915.

2) Von Widal und seinen Mitarbeitern wurde in letzter Zeit (Semaine méd., 1914) die paroxysmale Hämoglobinurie, welche anscheinend mit Lues in Beziehung steht, auf anaphylaktische Vorgänge bezogen.

der positiven G.R. äußert, zurückzuführen ist? Wir sind der Ansicht, daß die cytozymzerstörende Fähigkeit der Seren, welche positive G.R. geben, die spontane Gerinnbarkeit des Blutes nicht wesentlich beeinflussen dürfte, da sie sich (wie auch aus den oben mitgeteilten Versuchen ersichtlich ist) meist nur gegenüber Lipoidemulsionen und weniger gegenüber wasserlöslichem Cytozym geltend macht; letzteres scheint aber das bei der natürlichen Blutgerinnung hauptsächlich beteiligte Cytozym zu sein. Wir haben auch die positive G.R. und die Ungerinnbarkeit des Blutes nicht immer gleichzeitig angetroffen (wie Protokoll b Hundeanaphylaxie zeigt, wo die G.R. bei Probe IV schon negativ, das Blut aber noch ungerinnbar war). Die herabgesetzte Gerinnbarkeit des Blutes beruht bei Anaphylaxie anscheinend auf dem Auftreten eines Antithrombins (wie schon Nolf vermutet hat), somit auf einer gegen bereits gebildetes Thrombin, nicht nur gegen Cytozym gerichteten Substanz. Dies konnten wir auch für das Serum des anaphylaktischen Hundes nachweisen, welches fertiges Thrombin in seiner fällenden Eigenschaft hemmte. Begünstigt man die Thrombinbildung (Zusatz von Wasser, von Cytozym etc.), so kann diese Hemmung überwunden werden, ein Beweis, daß dieselbe nicht gegen die Entstehung, sondern mehr gegen die Wirkung des Thrombins gerichtet ist. Wenn wir daher irgendein ungerinnbares Blut durch solche, die Thrombinbildung fördernde Momente, wie z. B. Cytozym, zur Gerinnung bringen, so darf daraus nicht geschlossen werden, daß die Ungerinnbarkeit desselben durch Mangel an Cytozym bedingt gewesen sei (Morawitz schloß z. B., daß die Hämophilie auf Cytozymmangel des Blutes beruhe, weil er durch Cytozymzusatz eine schnellere Gerinnung erzielen konnte).

Ob bei Meerschweinchen und Kaninchen die herabgesetzte Gerinnbarkeit ebenfalls auf eine gegen das Thrombin gerichtete Hemmung, somit auf ein Antithrombin zurückzuführen ist, ist unseres Wissens noch nicht untersucht worden. Die bisher angewandte Methode (Silenski etc.) erlaubte eine derartig präzise Fragestellung nicht; man müßte ein aus reinem Serozym und Plättchenextrakt erhaltenes Thrombin im Oxalatmedium mit dem betreffenden Plasma oder Serum (in letzterem

Falle unter Fibrinogenzusatz) vermischen und die Gerinnungszeit mit entsprechenden Kontrollen vergleichen.

Es scheint, daß dem Stadium der herabgesetzten Gerinnbarkeit ein solches mit erhöhter vorausgeht. So haben wir einige Male bei Meerschweinchenanaphylaxie und vorübergehend auch beim Hund eine beschleunigte Gerinnung des Shockblutes im Schälchenversuch beobachten können. Wir sind damit beschäftigt, die Wirkungsweise gewisser Antithrombine näher zu untersuchen, und hoffen, dadurch auch einige weitere Gesichtspunkte für die Anaphylaxieforschung zu gewinnen.

Es erhebt sich ferner die Frage, ob die positive G.R. ein Ausdruck für die im Kreislauf stattfindende Antigen-Antikörperreaktion ist. Zum Studium dieser Verhältnisse erwies sich die passive Anaphylaxie als besonders geeignet. Wie wir oben mitgeteilt haben, trat eine positive G.R. nur dann ein, wenn die Injektion des antikörperhaltigen Serums genügend lange Zeit (20 Stunden) vor der Injektion des Antigens erfolgte. Bei gleichzeitiger oder nur durch wenige Stunden voneinander getrennter Injektion des Antikörpers und des Antigens kam eine G.R. nicht zustande oder war nur angedeutet, wie ja auch der anaphylaktische Shock unter diesen Umständen ausbleibt oder sehr schwach verläuft. Durch die direkte Einwirkung des Antigens auf den Antikörper kann somit die G.R. nicht bedingt sein[1]). Man nimmt an, daß erst bestimmte Organzellen die im Kreislauf vorhandenen Antikörper aufnehmen müssen, damit der Shock ausgelöst werden kann. Uebertragen wir diese Befunde auf das Auftreten der G.R. im Shock, so besagt das, daß bestimmte Organe beim Zustandekommen derselben eine Rolle spielen müssen. Es wäre daher von Interesse, zu untersuchen, ob z. B. die Tiere mit Eckscher Fistel, bei welcher der anaphylaktische Shock nicht zustande kommt, ferner Tiere nach Leberausschaltung etc. die durch die G.R. nachweisbare Ver-

---

1) Es sei hier erwähnt, daß wir auch in vitro die Antigen-Antikörperreaktionen mit der Gerinnungstechnik nicht zum Ausdruck bringen konnten.

änderung des Serums nicht mehr zeigen. Derartige Untersuchungen würden namentlich mit Rücksicht auf das Auftreten derselben Reaktion bei Lues von großem klinischen Interesse sein.

Aus den Protokollen geht zwar im allgemeinen hervor, daß die G.R. um so deutlicher vorhanden ist, je stärker die anaphylaktischen Symptome ausgesprochen sind. Es läßt sich aber nicht entscheiden, ob die in der G.R. sich ausdrückende Veränderung des Blutes das den Shock verursachende Moment oder ob sie bloß ein Nebensymptom ist, welches die klinischen Erscheinungen nicht direkt veranlaßt. Sicher scheint nur zu sein, daß der Shock als solcher nicht die Ursache der positiven G.R. ist, da wir mehrmals auch ohne typische Shocksymptome deutlich positive Serumreaktionen beobachtet haben.

Für die Diskussion über das Wesen der Anaphylatoxinvergiftung dürfte die Tatsache, daß hierbei dieselbe G.R. auftritt wie bei Anaphylaxie, von Bedeutung sein. Friedberger nimmt an, daß das Anaphylatoxin dieselben giftigen Spaltprodukte enthält wie das anaphylaktische Blut. Die gerinnungsphysiologische Technik kann diese Annahme in dieser Form nicht stützen. Das Anaphylatoxin ist im Gerinnungsversuch ein Gegenstück zum anaphylaktischen Serum, da es Lipoidextrakte im Vergleich zum nativen Serum in ihrem Cytozymcharakter verstärkt, während das Shockserum die Tendenz hat, dieselben zu zerstören. Der Zusammenhang der Anaphylatoxinwirkung mit der Anaphylaxie ließe sich so denken, daß dem anaphylaktischen Stadium ein anaphylatoxisches vorangeht, ohne daß wir dieses letztere (während dessen das Blut cytozymverstärkende Eigenschaften hätte) infolge der Geschwindigkeit, mit welcher es im Tierkörper in sein Gegenteil umschlägt, nachweisen können.

Unsere bisherigen Versuche gestatten uns nicht, zu entscheiden, ob die positive G.R. ein für Anaphylaxie charakteristischeres Symptom darstellt, als es z. B. die Lungenblähung, Drucksenkung etc. sind, welche nach der allgemeinen Auffassung für diese Vergiftung nicht absolut spezifisch sind. Es wäre denkbar, daß auch andere Eingriffe als die Reinjektion des Antigens resp. die Anaphylatoxininjektion zu denselben Zustandsänderungen des Blutes führen; die Tatsache, daß

Peptoninjektion beim Hund eine ähnliche Reaktion auslöst, scheint für diese Möglichkeit zu sprechen. Manche Beobachtungen deuten darauf hin, daß alle diese Reize zunächst auf gewisse Organe, speziell auf die Leber einwirken, durch welche dann sekundär die klinischen Erscheinungen des Shocks ausgelöst werden; die gleiche oder ähnliche Wirkung im Tierversuch könnte somit dadurch erklärt sein, daß diese Eingriffe ein bestimmtes Organ zu einer jeweils gleichen Reaktion veranlassen, woraus aber nicht geschlossen werden kann, daß sie untereinander identisch sind.

Zusammenfassung.

Im Blute von Tieren (Kaninchen, Meerschweinchen, Hund), welche aktiv oder passiv sensibilisiert wurden, tritt nach Reinjektion des Antigens schon nach wenigen Minuten eine Veränderung ein, der zufolge das aus solchem Blut gewonnene Serum eine positive Gerinnungsreaktion gibt, d. h. die Fähigkeit erlangt, gewisse Cytozymemulsionen zu zerstören. Die gleiche Veränderung wurde auch nach Anaphylatoxininjektion bei Meerschweinchen beobachtet. Das Blut zeigt somit bei Anaphylaxie und Anaphylatoxinvergiftung eine Eigenschaft, wie wir sie beim Menschen bisher nur bei Lues angetroffen und für diese Erkrankung als charakteristisch gefunden haben. Entsprechende Untersuchungen bei anaphylaktischen Zuständen des Menschen müssen zeigen, inwieweit die klinische Spezifität der Gerinnungsreaktion für Lues hierdurch eine Einschränkung zu erfahren hätte.

[Aus Dr. Hechts Serologischem Institut in Prag.]

Wassermannsche Reaktion und Präzipitation [1]).

Von Dr. Hugo Hecht.

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. Januar 1915.)

Chemisch-physikalische Untersuchungen über die Natur des Komplementes haben die Vermutung gezeitigt, daß wir es im Komplement mit keinem einheitlichen Stoff zu tun haben, sondern mit einer Funktion verschiedener Stoffe. Von den uns bekannten Bestandteilen des Komplementes entspräche das Mittelstück — an die Globuline gebunden — Aminosäuren, das Endstück dem Elektrolyten. Die Eigentümlichkeit des Komplementes, bei verschiedenen Vorgängen seine Wirksamkeit einzustellen, läßt sich mit dieser Auffassung ganz gut vereinen. Die verschiedenen Inaktivierungsarten kann man in zwei Gruppen teilen, je nachdem sie den einen oder den anderen Bestandteil des Komplementes alterieren: es handelt sich dann entweder um vorwiegende Schädigung des Mittelstückes (der Aminosäuren) oder des Elektrolyten (Endstück). Erstere haben fast stets die Eigenschaft, im Serum Fällungen zu bewirken, wie z. B. beim Schütteln, Stehenlassen.

Nun ist es klar, daß diese Auffassung des Komplementes als chemisch-physikalische Funktion der Serumstoffe mit unseren Kenntnissen über die Komplementbindungsreaktion verglichen und in Einklang gebracht werden mußte. Die Komplementbindung oder -inaktivierung als Folge einer Präzipitation würde am besten dieser Auffassung entsprechen.

Dieser Gedanke ist nicht neu und wurde im Anschluß an Moreschi und Gay und Klein anerkannt. Doch konnten im Gegensatz dazu Neisser und Sachs noch Komplementbindung feststellen, wenn Präzipitatbildung nicht mehr nachzuweisen war. Zudem bestand zwischen Stärke des Niederschlages und der Fähigkeit, Komplement zu binden, nicht immer ein direktes Verhältnis. Auch Wassermann und Bruck

---

1) Auszugsweise vorgetragen in der Wissenschaftlichen Gesellschaft deutscher Aerzte in Böhmen 8. Mai 1914.

fanden — bei Bakterienextrakten — einen Unterschied: beim Lagern der Extrakte schwindet die Präzipitationsfähigkeit, während das Komplementbindungsvermögen erhalten bleibt. Liefmann wies nach, daß durch thermische Eingriffe eine Eiweißlösung ihre Präzipitierbarkeit verlor, aber die Fähigkeit zur Komplementbindung behielt. Für die Selbständigkeit dieser beiden Prozesse spricht auch eine Beobachtung von Muir und Martin, wonach bei der Immunisierung mit fremdartigem Eiweiß komplementbindende Körper nachzuweisen sind, wenn die Präzipitine noch nicht gebildet sind. Ferner gelingt es, Antisera zu erhalten, welche zwar Komplement binden, denen aber das Präzipitationsvermögen fehlt, und umgekehrt Antisera (Moreschi), die zwar stark präzipitieren, aber nicht Komplement binden.

Es muß also als erwiesen gelten, daß eine sichtbare Präzipitation keineswegs als Vorbedingung für eine Komplementbindung vorhanden sein muß. Doch machen es Untersuchungen von Friedberger und Liefmann wahrscheinlich, daß Präzipitation und Komplementbindung zwar unabhängig voneinander verlaufen, daß aber die Antigen-Antikörperreaktion als eine der Ursachen für die Entstehung von Präzipitaten in Betracht kommen kann. Daß Präzipitate imstande sind, Komplement zu binden, hat mit der Frage der Identität beider Prozesse nichts zu tun.

Der Komplementbindung durch ein Antigen-Antikörpergemisch ähneln gewisse Vorgänge, bei denen zwar auch Komplement gebunden wird, d. h. bei Zusatz eines hämolytischen Systems keine Lösung eintritt, die aber im Wesen auf andere Prozesse (z. B. Summationswirkung) zurückzuführen sind. Doch spielt auch hier der kolloidale Zustand der Lösungen eine wichtige Rolle. Die Frage, ob die echte Komplementbindung auf dieselben Ursachen zurückzuführen ist, erscheint zurzeit noch ungelöst. Aber es wird vielfach, wie z. B. von Hailer, auch die echte Komplementbindung auf physikalische Adsorption zurückgeführt.

Die Wassermannsche Reaktion gleicht in ihrem Endeffekt den echten Komplementbindungsreaktionen; ihr Wesen ist noch ungeklärt, und man neigt immer mehr zu der Annahme, daß es sich um „Reaktionen zwischen zwei Komponenten, von denen die eine ihre Entstehung bzw. ihre besondere Veränderung einem spezifischen Einfluß (der syphilitischen Infektion) verdankt", handelt (H. Sachs und Altmann). Doch tritt Citron für die Spezifität der Wassermannschen Reaktion ein; sie sei eine echte Antigen-Antikörperreaktion. Nur sei das spezifische Antigen nicht bloß die Spirochätensubstanz, sondern komplizierter Natur. Im Luesserum gibt es mindestens zwei Arten komplementbindender Antikörper: Antikörper gegen Spirochäten und deren direkte Zerfallsprodukte, ferner Antikörper gegen heterologisiertes

Organprotoplasma. Letztere (Reagine) sind die praktisch weitaus wichtigeren.

Aehnliche Verhältnisse wiesen Citron und Klinkert bei der Tuberkulose nach. Sie fanden im Serum tuberkulöser Meerschweinchen Antikörper gegen Tuberkelbacillen und deren Derivate, dann aber Antikörper gegen heterologisiertes Organprotoplasma, insbesondere gegen Lipoide und Seifen. Antikörper der einen Gruppe binden mit den Antigenen der anderen Gruppe kein Komplement. Der Beweis für diese Theorie steht aber noch aus, und es sprechen wohl die bisher bekannten Tatsachen dafür, daß die Wassermannsche Reaktion eine unspezifische Reaktion ist.

Immerhin scheint zwischen Ausflockung und Wassermannscher Reaktion ein gewisser Zusammenhang zu bestehen, obzwar man oft bei ein und demselben Serum bezüglich beider Reaktionen Differenzen beobachten kann (Friedemann).

So z. B. wirken Säure und Alkali auf beide Prozesse gleichsinnig: Säure verstärkt die Wassermannsche Reaktion, Alkali schwächt sie ab (Sachs und Altmann). Für die Ausflockung von Lecithin und glykocholsaurem Natrium konnten Elias, Porges, Neubauer und Salomon das gleiche feststellen. Und auf Grund dieser Tatsachen sprachen sie sich dafür aus, daß Ausfällung und Komplementbindung „wesensgleich sind und nur verschiedene Erscheinungsformen ein und desselben Vorganges darstellen, der in einer kolloidalen Fällungsreaktion zwischen hydrophilen Kolloiden und den Globulinen zuzurechnenden Eiweißkörpern besteht, die im Luesserum infolge geringerer Stabilität eine größere Fällungszone verursachen". Und wie bei vielen Kolloidreaktionen fand sich auch hier ein Fällungsoptimum. Much konnte das bestätigen; er fand, daß ein Ueberschuß des Antigens die positive Reaktion aufhob. Uebrigens sprach sich auch Seligmann für eine Kolloidfällung als Ursache der Wassermannschen Reaktion aus. Schließlich sind auch Hirschfeld und Klinger der Ansicht, daß die „Komplementbindung von einer Fällung von Serumkolloiden (Globulinen) begleitet wird; da durch denselben Eingriff, welcher eine solche Fällung unmöglich macht (Hypertonie), auch die Komplementbindung verhindert wird, ist der Schluß gerechtfertigt, daß diese Globulinfällung nicht ein an sich bedeutungsloser, die Komplementbindung bloß begleitender Vorgang ist, sondern vielmehr in kausalem Zusammenhang mit der Komplementabsorption stehen muß. Die zur Komplementbindung führenden Reaktionen sind an Fällungen der Globuline gebunden."

Direkt konnte das Jacobsthal nachweisen: Luessera + Antigen zeigen ultramikroskopisch größere Schollenbildung als Normalsera + Antigen. Leibkind und Liebers bestätigten diese Befunde. Nach Bruck und Stern beruht die Wassermannsche Reaktion bei Syphilis nur zum Teil auf einer Immunitätsreaktion; der wichtigere Teil ist jedoch kein Im

munitätsphänomen, sondern ein physikalisch-chemischer Vorgang, der sich zwischen zwei ganz oder fast identischen Substanzen vollzieht. Im Verein mit Hidaka arbeitete Bruck auf Grund dieser Anschauungen eine Präzipitationsmethode aus, bei der Luesserum + Extrakt einen Niederschlag gab, während negative Sera nicht reagierten; doch kamen sie über die einleitenden Versuche nicht hinaus.

Zuerst haben wohl Fornet und Schereschewsky über eine direkte Präzipitation im Syphilisserum berichtet; es wurden Sera von Syphilitikern verschiedener Stadien überschichtet. Doch ist der Versuch von Michaelis instruktiver, der einen wässerigen Leberextrakt mit Syphilisserum vermischte und starke Präzipitation beobachten konnte. Schließlich sei noch erwähnt, daß Preti auf die präzipitierende Wirkung des Blutserums Tuberkulöser mit Lipoiden des Tuberkelbacillus aufmerksam machte; er empfahl diese Methode sogar zur Diagnosenstellung.

I.

Ich ging davon aus, daß es sich bei der Wassermannschen Reaktion um Kolloid-Kolloidfällungen handelt, für die das Hardysche Gesetz, daß entgegengesetzt geladene Lösungsbestandteile einander ausfällen können, gilt. P. Schmidt hat Untersuchungen angestellt, wie sich die beiden hier in Betracht kommenden Kolloide bei der Kataphorese verhalten. Es ergab sich, daß das Extraktkolloid negativ geladen war; das gleiche war beim Gemisch Extraktkolloid + Albuminlösung der Fall. Untersuchte man aber Extraktkolloid + Globulinlösung — die „Luesreagine" sind an die Globuline gebunden — so erhielt das Extraktkolloid eine positive Ladung. Dabei ergab sich die wichtige Tatsache, daß die Luesglobuline gegenüber den Normalglobulinen keinen Unterschied in der Wirkungsweise zeigten. Man wird demnach die verschiedene Wirkungsweise der Globuline nicht auf quantitative Unterschiede beziehen können, sondern höchstwahrscheinlich auf verschiedenes kolloidchemisches Verhalten.

Diese Feststellung Schmidts ist für die Auffassung der Wassermannschen Reaktion sehr wichtig und in Einklang zu bringen mit anderen Tatsachen. So kann z. B. bei gründlich gegen Wasser dialysiertem Eiweiß jegliche Ladung ausgeschaltet werden (Pauli). Fügt man nun Essigsäure bis zu 0,005-normal hinzu, so bekommt das Eiweiß kathodische, bei Zusatz von Natronlauge bis zu 0,005-normal anodische Konvektion. Nach Sachs und Altmann kann durch Zusatz

von $^1/_{1000}$—$^1/_{3200}$ n Natronlauge zu einem positiv reagierenden Serum eine negative Wassermannsche Reaktion erzielt werden; durch $^1/_{1000}$—$^1/_{2000}$ n Salzsäure kann ein negatives Serum positiv werden. Es liegt nun nahe, anzunehmen, daß die Wirkung dieser Reaktionsänderung in einer Umkehrung der elektrischen Konvektion besteht; demnach wäre die Vorstellung plausibel, daß die positive Wassermannsche Reaktion hervorgerufen wird durch eine Aenderung des elektrischen Zustandes infolge Säurevergiftung.

Um nun eine nur ultramikroskopisch nachgewiesene Ausflockung (Jacobsthal) auch dem bloßen Auge sichtbar zu machen, mußte, wenn es sich wirklich um einen kolloidchemischen Vorgang handelt, eine leichtere Ausflockbarkeit des Antigens zu einem Resultate führen. Ferner befördert eine Erhöhung der Temperatur den Eintritt der Ausflockung.

Die Herstellung eines brauchbaren Antigens gelang auf zweierlei Weise. In eine Reibschale kamen 0,9 g Kochsalz und 20 ccm eines alkoholischen Herzextraktes; die Schale wurde in den Thermostaten gestellt. Nach einigen Stunden war der Alkohol abgedunstet und am Boden der Schale ein Satz, aus Kochsalz und gelblichem Niederschlag bestehend, der zuerst trocken verrieben und dann allmählich mit 100 ccm destillierten Wassers aufgenommen wurde. In 1 ccm dieser trüben Emulsion befanden sich 0,009 g Kochsalz und die Extraktivstoffe von 0,2 ccm des Extraktes. Selbst nach längerem Stehen bildeten sich in dieser Emulsion keine nennenswerten Flocken. Auch zur Wassermannschen Reaktion ist dieser Extrakt hervorragend geeignet.

Oder es wurde in Röhrchen (15 mm weit, 5 cm hoch) je 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung sorgsam mit 0,2 ccm des alkoholischen Extraktes überschichtet und in den Thermostaten gebracht. Nach ungefähr 8 Stunden war der Alkohol abgedunstet und die Flüssigkeit ganz trüb und undurchsichtig. Diese Art der Zubereitung zeitigte bessere Resultate.

Zur Präzipitinreaktion wurden 0,2 ccm des Menschenserums — einerlei ob aktiv oder inaktiv — und 1 ccm der Antigenemulsion in Widal-Röhrchen von 5 mm Durchmesser gemischt und in den Thermostaten gestellt. Nach längstens

8 Stunden war nun folgendes festzustellen: Bei luetischen Seren hatte sich im oberen Drittel des Röhrchens eine große, lockere, schleimige, durchsichtige Wolke gebildet, deren Kern oft massive, weiße Präzipitate enthielt. Bei Zimmertemperatur zog sich dieses Gebilde immer mehr zusammen und sank dann öfters zu Boden; die Flüssigkeit war ganz klar im Vergleich zu einem Röhrchen, das bloß Antigen enthielt. Bei normalen Seren war nichts oder fast nichts zu beobachten: die Flüssigkeit blieb trüb und durchscheinend. Bei zu großen Antigenmengen kam es manchmal auch mit normalen Seren zur Bildung solcher Präzipitate. Bei manchen Luesseren bildeten sich in der ganzen Flüssigkeitssäule kleine, kompakte Flocken, die dann am Grunde einen größeren Bodensatz ergaben. Bei Erhöhung der Temperatur — 54° im Wasserbade — war die Reaktion oft schon in 1 Stunde vollendet und bot dasselbe Bild wie bei 37°.

Daß es sich bei diesem Vorgange um eine Alteration des Antigens handelt, geht aus folgender Versuchsanordnung hervor: Bei einer typisch-positiven Reaktion — große Flocke, klare Flüssigkeit — überträgt man vorsichtig mit einer Saugpipette die Flocke in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung, schüttelt gut durch, fügt Komplement hinzu und stellt das Gemisch auf 1 Stunde in den Thermostaten; nach Zusatz von sensibilisierten Blutkörperchen erfolgt keine Hämolyse, d. h. *in der Flocke war der komplementbindende Komplex aus Antigen-Luesserum* enthalten. Hingegen gibt die klare Flüssigkeit keine Komplementbindung. Gibt man aber neues Antigen hinzu, dann tritt Komplementbindung ein, d. h. in der klaren Flüssigkeit waren wohl Antikörper, aber kein wirksames Antigen vorhanden.

Schlußsatz: Es gelingt also, die Präzipitation der Antigenemulsion durch das Luesserum auch fürs bloße Auge sichtbar darzustellen. Da nun das so gebildete Präzipitat Komplement bindet, liegt die Annahme nahe, für die *Wassermannsche* Reaktion einen ähnlichen Vorgang als Ursache der Komplementbindung anzunehmen; nur ist bei der gebräuchlichen Methodik das durch Einwirkung des Luesserums auf das Antigen entstandene Präzipitat fein verteilt und ohne besondere Darstellung nicht sichtbar.

II.

Liegt nun der Wassermannschen Reaktion eine Präzipitation zugrunde, dann wäre es vielleicht möglich, sie durch eine ganz bestimmte Versuchsanordnung nachzuweisen. Zu dem Zwecke wurde folgendes Schema ausgearbeitet.

Nummer	NaCl-Lösung	Lues-Serum	Antigen	Komplement		1 Stunde im Thermostaten	Na-Cl-Lösung	Antigen	Serum	Komplement	Zusatz von sensibilisiertem Blut nach 5—15 Min.	Resultat
1	0,5	0,1	1	—			—	—	—	1		++
2	—	0,1	—	1			0,5	1	—	—		+++
3	—	—	1	1			0,5	—	0,1	—		++
4	—	0,1	1	1			—	—	—	—		+++
5	—	0,1	1	—	Kontr.		—	—	—	—		+++
6	—	0,1	—	1			—	—	—	—		—
7	—	—	1	1			—	—	—	—		—
8	0,5	—	—	1			—	—	—	—		—

Je zwei der drei wirksamen Faktoren bei der Wassermannschen Reaktion wurden gemischt und für 1 Stunde in den Thermostaten gebracht. Solcher Reihen wurden von jedem Serum drei angestellt. Nach 1 Stunde wurde der noch fehlende Teil — schon vorerwärmt — hinzugefügt, das Ganze durchgeschüttelt; dann wurde die eine Reihe nach 5, die zweite nach 10, die dritte nach 15 Minuten mit sensibilisiertem Blut ergänzt.

Es zeigte sich, daß 5 Minuten zur Vollendung der Reaktion zu kurz waren. Doch schon nach 10 Minuten Einwirkung war ein interessantes Verhalten festzustellen: am stärksten fiel die Komplementbindung dort aus, wo Serum + Komplement 1 Stunde vereinigt waren; wenn das Antigen bloß 10 Minuten auf dieses Gemisch eingewirkt hatte, war die Reaktion vollzogen und genau so stark wie im Röhrchen 4, welches den Originalbedingungen der Wassermannschen Reaktion entsprach.

Ich hätte entsprechend den Erfahrungen, die ich mit den Präzipitationsversuchen gemacht habe, angenommen, daß im Röhrchen 1 — Luesserum + Antigen — die stärkste Komplementbindung auftreten werde; es wäre schon die Präzipitation vollzogen und das später hinzugekommene Komplement bloß der Indikator für diesen Vorgang. Wenn aber die stärkste

Wirkung dort entfaltet wird, wo Serum und Komplement zunächst aufeinander einwirken, so spricht dies sicher nicht gegen die Annahme einer Präzipitation, sondern nur dafür, daß 1) diese Versuchsanordnung eben nicht geeignet ist, unsere Vermutung zu bekräftigen, dagegen 2) einen neuen Beweis erbringt, daß die Reaktion bei Vorhandensein von Komplement besser vonstatten geht. Es ist also dieser Versuch nur ein Beleg mehr für die Notwendigkeit des Komplementes und die größere Empfindlichkeit aller der Methoden, die mit aktivem Serum arbeiten. Denn der Versuch gelingt auch, wenn man aktives Serum allein nimmt und dann Komplement + Antigen hinzusetzt. Wir können uns vorstellen, daß es nicht bloß das Komplement ist, das zu dieser Empfindlichkeit beiträgt, sondern ein ganz bestimmter physikalischer Zustand des Serums, den wir im aktiven Serum annehmen müssen. Das Erwärmen auf 56° z. B. verändert bekanntlich den physikalischen Zustand des Serums ganz gewaltig; es ist leicht erklärlich, daß dann das Phänomen der Komplementbindung oder Präzipitatbildung nicht so leicht vonstatten geht wie im aktiven Serum. Hat ein Serum seine Aktivität verloren, so kann es durch Zusatz von frischem Serum wieder reaktiviert werden, d. h. sein physikalischer Zustand dem des aktiven gleichgemacht und die Empfindlichkeit für biologische Vorgänge wiederhergestellt werden.

Schlußsatz: Wenn also in diesen Versuchen auch keine neue Stütze für die im ersten Absatz ausgesprochene Vermutung, daß es bei der Wassermannschen Reaktion zwischen Antigen und Luesserum zu einer Präzipitatbildung komme, erblickt werden kann, so bieten sie doch für ein anderes Thema eine gute Ergänzung: die praktisch bekannte Tatsache der größeren Empfindlichkeit aktiver Sera bei der Wassermannschen Reaktion kann auch durch diese Versuche erklärt werden.

Zusammenfassung.

1. Durch geeignete Herstellung von Antigenemulsion gelang es, eine Präzipitation derselben durch Luesserum makroskopisch sichtbar zu machen.

2. Beim vorherigen Digerieren nur zweier Komponenten der zur Wassermannschen Reaktion erforderlichen Faktoren (Antigen, Luesserum und Komplement) und später folgendem Zusatz der dritten Komponente ergaben sich optimale Bedingungen, wenn Luesserum und Komplement vorher vereinigt waren.

3. Da der Versuch in entsprechender Weise auch gelingt, wenn man aktives Serum allein verwendet und dann Komplement + Antigen hinzufügt, so wird geschlossen, daß nicht nur das Komplement als solches, sondern die Eigenart des physikalischen Zustandes im aktiven Serum für die Verstärkung der Empfindlichkeit beim vorherigen Digerieren von inaktivem Serum und Komplement verantwortlich ist, was der bekannten stärkeren Reaktionsfähigkeit der aktiven Sera entspricht.

Literatur.

Bruck und Hidaka, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Bd. 6, 1910.
Bruck und Stern, ebenda.
Citron, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 9.
Citron und Klinkert, Münch. med. Wochenschr., 1913, p. 2541.
Elias, Porges, Neubauer und Salomon, Wiener klin. Wochenschr., 1908, No. 18.
Friedberger und Liefmann, zit. bei Sachs und Altmann, Handb. d. path. Mikroorg., 2. Erg.-Bd., Heft 3.
Friedemann, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 67, 1910.
Fornet und Schereschewsky, Münch. med. Wochenschr., 1907, No. 30.
Gay, Centralbl. f. Bakt., Bd. 34, 1905.
Hailer, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt, Bd. 29, Heft 2.
Hirschfeld und Klinger, Berl. klin. Wochenschr., 1914, p. 1173.
Jacobsthal, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Bd. 8, 1911.
Klein, Wiener klin. Wochenschr., 1905, No. 48.
Liebers, Arch. f. Hyg., Bd. 80.
Liefmann, Berl. klin. Wochenschr., 1906, No. 15.
Michaelis, ebenda, 1907, No. 46.
Moreschi, ebenda, 1905, No. 37; 1906, No. 4.
Muir und Martin, zit. bei Sachs und Altmann.
Preti, Münch. med. Wochenschr., 1914, p. 241.
Sachs und Altmann, Berl. klin. Wochenschr., 1908, No. 14.
Seligmann, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Bd. 1, 1909.
Schmidt, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 69.
Wassermann und Bruck, Med. Klinik, 1905, p. 55.

[Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich (Vorstand: Professor Dr. W. Silberschmidt).]

Ueber das serologische Verhalten von Milch und Milcheiweißkörpern in frischem und gekochtem Zustande.

Von **Arnold Versell.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 21. Januar 1915.)

Die Erfolge der modernen Technik in der künstlichen Säuglingsernährung gaben mir die erste Anregung zur vorliegenden Arbeit. Es drängte sich mir die Frage auf, ob nicht die Molkenaustauschversuche von Meyer, wie auch die Erfolge der Eiweißmilch (Finkelstein) in einem gegensätzlichen biologischen Verhalten zwischen Kaseïn einerseits, den Eiweißkörpern der Molke andererseits eine Erklärung finden könnten.

Herr Prof. Dr. Silberschmidt, der sich schon mehrfach eingehend mit der Milchbiologie befaßt hat[1]), brachte meinem Vorhaben warmes Interesse entgegen. Für seine freundliche Unterstützung und mannigfachen Anregungen, sowie auch für die seiner Mitarbeiter und Mitarbeiterinnen erlaube ich mir hier allen meinen besten Dank zu sagen.

Mitten in die vorbereitenden Versuche traf die Arbeit von Kudicke und Sachs über die biologische Isolierung des Kaseïns durch Kochen der Milch. Diese Arbeit bedeutete auch für meine Fragestellung einen wichtigen Schritt; auch hatte ich fast ohne weiteres das Material in Händen, diese Arbeit nachzuprüfen und nach mehreren Richtungen zu erweitern. So sah ich mich veranlaßt, auch die speziellen Untersuchungen über die gekochte Milch in meine Arbeit einzubeziehen.

---

1) Silberschmidt, Deutsche med. Wochenschr., 1903, No. 27/28. — Sidler, Arch. f. Hyg., Bd. 47, 1903. — Smeliansky, Arch. f. Hyg., Bd. 59, 1906.

Technik und Anordnung der Versuche.

Unsere sämtlichen Versuche wurden nach der Komplementbindungsmethode angestellt. Die Antisera wurden von Kaninchen in der Weise gewonnen, daß das jeweilige Antigen den Tieren intravenös eingespritzt wurde. Meist waren 4 bis 6 Injektionen notwendig, um einen brauchbaren Titer der Komplementablenkung zu erzielen. 10 Tage nach der letzten Injektion wurde das Blut steril entnommen, das Serum abzentrifugiert und im Kühlraum bei + 2° aufbewahrt.

Als erster hat Bordet durch subkutane Injektion von Kuhmilch ein Laktoserum an Kaninchen gewonnen. Von Milchbestandteilen wurde das Kaseïn und auch die übrigen Eiweißkörper in verschiedener Form als Antigene zur Erzeugung von Antiseren verwendet. So erhielt Moro Antisera von reinem, pulverisiertem Kuh- und Frauenkaseïn (Pfaundler im Handbuch für Milchkunde von Sommerfeld). Hamburger trennte Milch durch Essigsäure in Kaseïn und „Albumin" und erhielt von beiden Körpern Antisera; Amberg stellte mit Ammoniumkaseïn der Frauen- und der Kuhmilch Antisera her, und Baumann gewann ein solches mit Labmolke. Hamburger, Schloßmann und Moro trennten die Eiweißkörper der Milch durch das Tonzellenfilter und erhielten Antisera sowohl mit dem Filtrat („Albumin") als auch mit dem rückständigen Kaseïn; Kollmeyer gewann durch Aussalzen das Globulin der Milch und ebenfalls ein Antiserum gegen dieses Antigen.

Wir benutzten als Antigene zur Gewinnung unserer Antisera folgende Substanzen:

1) frische Kuhmilch, welche durch Zentrifugieren entrahmt worden war;
2) Kuhmolke } nach dem unten beschriebenen Verfahren
3) Kuhkaseïn } hergestellt;
4) gekochte Kuhmilch; hierzu wurde die frische entrahmte Kuhmilch aufs 10-fache verdünnt und 40 Minuten lang im Wasserbad gekocht; das zugehörige Antiserum nennen wir nach Kudicke und Sachs Koktolaktoserum;
5) frische, entrahmte Frauenmilch (in freundlicher Weise von der Züricher Universitäts-Frauenklinik zur Verfügung gestellt);
6) inaktiviertes Rinderserum } 30 Minuten lang bei 57°
7) „ Menschenserum } inaktiviert.

Als Antigene für die Reaktionen wurden mit den genannten Antiseren zur Einwirkung gebracht:

1) entrahmte Kuhmilch		sämtliche Substanzen in frischem, wie auch in gekochtem Zustand, so daß im ganzen 24 Antigene zur Verwendung gelangten.
2) Kuhmolke 3) Kuhkaseïn	s. unten	
4) entrahmte Ziegenmilch		
5) Ziegenmolke 6) Ziegenkaseïn	s. unten	
7) entrahmte Frauenmilch		
8) Frauenmolke 9) Frauenkaseïn	s. unten	
10) inaktiviertes Rinderserum		
11) „ Ziegenserum		
12) „ Menschenserum		

Kuhkaseïn und Kuhmolke wurden nach einem Verfahren hergestellt, das uns Herr Prof. Dr. Winterstein von der Eidgenössischen technischen Hochschule in Zürich in freundlicher Weise empfohlen hat; es gewährt den Vorteil, daß diese labilen Eiweißkörper in möglichst einfacher und schonender Weise dargestellt werden können.

Die frische, entrahmte Kuhmilch, mit physiologischer Kochsalzlösung aufs 40-fache verdünnt, wird mit Essigsäure versetzt, eben daß gerade noch keine Ausfällung erfolgt; durch Einleiten von CO_2 gelingt es dann, einen feinflockigen Niederschlag von Kaseïn zu erhalten, der durch Zentrifugieren und fünfmaliges gründliches Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung von der Molke und den darin enthaltenen löslichen Körpern befreit wird. Dieses Kaseïngerinnsel wurde in physiologischer Kochsalzlösung mit Zusatz von 5 Prom. Natr. bicarbon. langsam aufgelöst. Als Stammlösung diente eine Lösung, welche pro 1 ccm diejenige Kaseïnmenge enthielt, die aus 1 ccm entrahmter Milch gewonnen worden war; sie reagierte leicht alkalisch und entsprach im osmotischen Druck annähernd der physiologischen Kochsalzlösung.

Als Molke verwendeten wir die schwach grünliche, fast klare Flüssigkeit, welche nach dem ersten Abzentrifugieren des Kaseïngerinnsels durch Dekantieren gewonnen wurde. Wir wählen den Ausdruck Molke, um mit unserer Benennung nichts Bestimmtes über den chemischen Charakter dieses Eiweißgemisches auszusagen. Da die saure Reaktion dieser Flüssigkeit (infolge der zugesetzten Essigsäure) für unsere Versuche sich als schädlich erwies, wurde vorsichtig Natr. bicarbon. bis zur Neutralisierung hinzugefügt. Als Einheit unserer Molke betrachteten wir eine Lösung, welche pro 1 ccm diejenigen löslichen Eiweißkörper enthält, die aus 1 ccm Milch gewonnen werden können.

Ziegenkaseïn und Ziegenmolke wurden in ähnlicher Weise gewonnen. Es mußte bei der Säuregewinnung nur noch der Umstand

berücksichtigt werden, daß das Ziegenkaseïn nicht momentan ausfällt, sondern erst nach $^1/_2$—1-stündigem Stehen.

Nach einer anderen Methode mußten wir das Frauenkaseïn gewinnen. Einmal enthält die Frauenmilch sehr wenig Kaseïn; sodann läßt sich dieses nur unter besonderen Bedingungen ausfällen. Wir benützten das Verfahren von Engel (in C. Neuberg, Harn, Ausscheidungen und Körperflüssigkeiten, Bd. 2 zitiert). Die nicht entrahmte Frauenmilch wurde 5-fach verdünnt, dann pro 10 ccm Milch 2,5 ccm $n/_{10}$ Essigsäure zugesetzt. Nach 2-stündigem Stehen hatte sich ein äußerst feinflockiges Gerinnsel gebildet, welches aufgeschüttelt und im Wasserbad auf 40° erwärmt, sodann filtriert wurde. Das Filtrat, mit Natr. bicarbon. neutralisiert und mit Kochsalz auf den osmotischen Druck des Blutes gebracht, bildete unsere Frauenmolke.

Der Rückstand, der außer dem Kaseïn noch das ganze Fett enthielt, wurde zuerst mit physiologischer Kochsalzlösung, dann mit Aether tüchtig gewaschen und vom Fett befreit. Das zurückbleibende Kaseïngerinnsel wurde wieder in physiologischer Kochsalzlösung mit Zusatz von 5 Prom. Natr. bicarbon. aufgelöst, so, daß diese Stammlösung pro 1 ccm diejenige Kaseïnmenge enthielt, die aus 1 ccm Frauenmilch erhalten worden war.

Die gekochten Antigene wurden in geeigneter Verdünnung 40 Minuten lang im Wasserbad gekocht. Die Verdünnung wurde in der Regel 1 : 10 gewählt, oder dann so, daß keine Ausflockung und möglichst geringe Selbstablenkung im Komplementbindungsversuch entstand. Kuhmilch und Kuhkaseïn wurden ferner noch für einige Versuche in verschiedener Dauer gekocht: 5, 12, 24, 48 Minuten, sowie 20 Minuten lang im Autoklaven auf 120° erhitzt.

Als Komplement wurde frisch gewonnenes Meerschweinchenserum verwendet. Dieses, wie auch das hämolytische System, bestehend aus gewaschenen Hammelblutkörperchen und einem Kaninchenserum, das durch Immunisieren mit Hammelblut gewonnen worden war, wurde mir von der hygienischen Untersuchungsstation des Instituts gütigst zur Verfügung gestellt.

Die quantitativen Verhältnisse gestalteten sich, wie folgt: Der große Verbrauch an Antiserum nötigte uns, sämtliche Versuche in der halben Dosis der sonst üblichen Mengen auszuführen, also pro Röhrchen $5 \times 0{,}5$ ccm statt $5 \times 1{,}0$ ccm zu nehmen. Die Zahlen der Tabellen beziehen sich jedoch immer auf die gebräuchliche Menge von 5 resp. 1 ccm.

Blutkörperchen und hämolytisches Serum wurden in stereotyper Menge verwendet, und zwar die Blutkörperchen in einer Suspension von 1:20, das hämolytische Serum in der 4-fachen Dosis derjenigen Menge, die mit Komplement und Blutkörperchen allein eben noch vollständige Hämolyse ergab.

Das Komplement gelangte in unseren ersten Versuchen in 5 bis 6 Abstufungen von 10—2 Proz. zur Anwendung; wir schränkten in der Folge die Abstufungen ein, einerseits weil die niedrigsten Mengen zu nahe

an der Grenze der Eigenhemmung einzelner Antisera und Antigene lagen, andererseits weil die höheren Dosen bei schwächeren Antiseren keine Ausschläge mehr zeigten. Als praktisch zuverlässigste Dosen erwiesen sich uns zwei Abstufungen zwischen 6 und 3 Proz.

Die *Antisera* verwendeten wir in den endgültigen Versuchen nur in *einer* Dosis und zwar meist in der höchsterlaubten, d. h. in der halben Dosis derjenigen Menge, die an der Grenze der Eigenhemmung stand, jedoch nicht über 0,2 pro 1 ccm. Wir wählten diese hohen Dosen auf Grund unserer Vorversuche, welche ergaben, daß namentlich die schwächeren Antisera in stärkerer Verdünnung zu sehr an komplementbindender Kraft einbüßten.

Die *Antigene* verwendeten wir in 3—8 Abstufungen (in der Regel 4), welche in geometrischer Reihe, nach dem Quotienten 3 oder 5 absteigend, angeordnet waren. Die erste Stufe mit der größten Antigenmenge betrug in der Regel 0,1 pro 1 ccm und wird in unseren Tabellen jeweils mit dem Buchstaben a bezeichnet; die folgenden demgemäß $a/_{3}$, $a/_{9}$ usw.

Vorversuche. Dieselben dienten erstens zur Feststellung des *Titers* der Antisera. Es mag hier bemerkt werden, daß es uns gelang, mit Frauenmilch, Menschen- und Rinderserum einen relativ hohen Titer zu erreichen (bei Verdünnungen des homologen Antigens von 1 : 10000 und 1 : 30000 noch deutliche Ablenkung); dagegen hatten wir namentlich mit Kaseïn und gekochter Milch große Mühe, den Titer zu brauchbarer Höhe zu steigern.

Zweitens stellten wir in einer Reihe von Vorversuchen die Tauglichkeit und die höchsterlaubte Dosis unserer *Antigene* fest. In mehrfachen Untersuchungen fanden wir, daß dieselben in der höchstverwendeten Dosis von 0,1 und auch bei 0,2 keine *Selbstlösung* der Blutkörperchen hervorriefen, sei es mit oder ohne Komplementzusatz. Sämtliche ungekochten Milchbestandteile, sowie ungekochte und gekochte Milch, ferner das inaktivierte Blutserum ergaben weder in der verwendeten Dosis von 0,1 noch in der doppelten Dosis *Eigenhemmung*, d. h. unspezifische Selbstablenkung des Komplements. Die Menge 0,1 pro 1 ccm wurde deswegen als Ausgangspunkt gewählt, weil in dieser Verdünnung die Milchtrübung nicht mehr beträchtlich war. Von den *gekochten* Milchbestandteilen hingegen zeigte die Molke ganz ausgesprochene Eigenhemmung, so daß sie nie über $^1/_{40}$ verwendet werden konnte, ausgenommen die gekochte Frauenmolke, die anstandslos in der Verdünnung 1 : 10 verwendbar war. Auch das gekochte Blutserum zeigte gelegentlich deutliche Eigenhemmung, ausnahmsweise einmal auch das gekochte Kaseïn.

Die Prüfung der *Antisera* auf Eigenhemmung ergab für einige Sera einen so hohen Grad der Selbstablenkung, daß sie für unsere Versuche untauglich wurden. Oefters bemerkten wir eine Selbstablenkung bis zur Dosis 0,3, seltener bis 0,2; es wurde dann jeweilen die Hälfte

derjenigen Menge verwendet, die eben keine Selbstablenkung mehr ergeben hatte.

Für sämtliche Vorversuche zur Prüfung auf Eigenhemmung wurde die kleinere Komplementmenge, meist 0,03, verwendet, um auch bei Verwendung dieser kleineren Menge in den endgültigen Versuchen vor unspezifischer Komplementbindung gesichert zu sein.

In einer Reihe von Vorversuchen haben wir sodann die Gruppierung unserer Versuche ausgearbeitet, wobei sich uns als geeignetste Methode eine Kombination von Antigenabstufung und Komplementabstufung bei konstanter Antiserummenge ergab, die wir in der Folge konsequent beibehielten.

Die **endgültigen Versuche** wurden so ausgeführt, daß immer in einem Versuch ein Antiserum mit sämtlichen überhaupt verwendeten Antigenen in Reaktion gebracht wurde. Diese Art des Vorgehens ergab sich aus dem Umstand, daß die verschiedenen Antigene zum großen Teil jederzeit frisch zur Verfügung standen, teils ohne große Schwierigkeit neu hergestellt werden konnten, während die Antisera geeignete, vorbehandelte Versuchstiere voraussetzten und in ihrer Haltbarkeit sehr wechselten.

Die Technik der Versuche gestaltete sich folgendermaßen: Jedes Röhrchen erhielt zuerst 0,5 ccm seines bestimmten Antigens resp. seiner Antigenverdünnung (die Antiserumkontrollen 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung). Sodann wurden überall 0,5 ccm derjenigen Antiserumverdünnung hinzugefügt, die im Vorversuch sich als wirksam und tauglich erwiesen hatte (die Antigenkontrollen erhielten statt dessen 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung). Jede Reihe der verschiedenen Antigene war doppelt angelegt; nun erhielt die eine Reihe jedes Antigens pro Röhrchen 0,5 ccm der stärkeren (4,5—6-proz.) Komplementlösung, die andere Reihe 0,5 ccm der schwächeren Lösung (3—3,75-proz.). Die zwei Komplementabstufungen gewährten einmal eine stete Kontrolle beider Reihen untereinander, wie auch eine schärfere Differenzierung der Resultate.

Das Gemenge (Antiserum + Antigen + Komplement) wurde tüchtig geschüttelt, 1 Stunde lang in Brutwärme gehalten, sodann pro Röhrchen 1 ccm der sensibilisierten Hammelblutkörperchensuspension hinzugefügt und das Ganze wieder in Brutwärme gehalten, bis sämtliche Antigen- und Antiserumkontrollen vollständige Hämolyse zeigten. Da wir in einzelnen Fällen Nachlösung beobachteten, sahen wir uns veranlaßt, mehrmals zwei Ablesungen zu notieren (z. B. nach 30 Minuten und nach 2 Stunden).

Von 29 immunisierten Versuchstieren haben wir 13 brauchbare Antisera gewonnen; die übrigen Sera konnten wir ent-

weder wegen zu starker Eigenhemmung oder wegen zu geringer Reaktion nicht verwenden. Mit diesen 13 Antiseren haben wir 49 Versuche angestellt, wovon 35 als Grundlage unserer Ergebnisse dienen können, während die übrigen teils unter die Vorversuche zur Ausbildung der Technik zu rechnen sind, teils unberücksichtigt bleiben mußten, weil die Kontrollen nicht stimmten.

Gemäß der Aufgabe, die wir uns gestellt haben, betrachten wir die Ergebnisse unserer Untersuchungen nach drei Gesichtspunkten:

1) Serologisches Verhalten verschiedener Milcharten untereinander.

2) Verhalten der einzelnen Milcheiweißkörper (Molke und Kaseïn) untereinander sowie zu Milch und Serum der gleichen Art.

3) Vergleichung der serologischen Reaktionen von Milch und Milcheiweißkörpern in frischem und in gekochtem Zustande.

1. Serologisches Verhalten verschiedener Milcharten untereinander.

Die Spezifität der Eiweißkörper, d. h. die Erscheinung, daß das Antiserum, welches durch Injektionen eines Eiweißkörpers ins lebende Tier erhalten wird, mit ebendiesem Eiweißkörper spezifisch reagiert, diese Erscheinung wurde zuerst unter anderem gerade an einem Laktoserum von Bordet beobachtet. Diese Spezifität wurde in der Folge nach zwei verschiedenen Richtungen hin untersucht, einmal in bezug auf eine mehr oder weniger scharfe Abgrenzung der einzelnen Eiweißkörper, die von ein und derselben Tierart stammen, zweitens auf die Differenzierung der gleichnamigen Eiweißkörper verschiedener Tierarten. So wurde auch die Milch und ihre Bestandteile untersucht und verglichen einerseits mit Serum, Colostrum, Sperma und anderen Eiweißsubstanzen der gleichen Tierart, und andererseits wurden verschiedene Milcharten untereinander verglichen.

Wegen der hohen praktischen Bedeutung einer biologischen Vergleichung der verschiedenen gebräuchlichen Milcharten für

die Säuglingsernährung haben wir uns in erster Linie dieser Frage zugewandt.

Als erste haben Fish, Wassermann und Schütze vermittels Präzipitation verschiedene Milcharten biologisch unterschieden; Schloßmann und Moro fanden speziell zwischen dem Albumin der Frauen- und der Kuhmilch eine starke Differenz in der Stärke der Reaktion. Während Wassermann und Schütze eine absolute Spezifität des Kuhlaktoserums auch gegen Ziegenmilch beobachtet hatten, fand Moro (von Hamburger bestätigt) zwischen Kuhlaktoserum und Ziegenmilch deutliche Präzipitation, nie aber mit Frauenmilch. Auch Bauer und Kollmeyer fanden sowohl durch Präzipitation als durch Komplementbindung deutliche Differenzen zwischen verschiedenen Milcharten; doch stellen sie mehr in den Vordergrund, daß die Milch verschiedener Tierarten Verwandtschaftsreaktionen untereinander zeigt, ebenso auch die Milchbestandteile: Kaseïn und Albumin. Der Grad der Verwandtschaftsreaktion spiegelte in ihren Versuchen deutlich die verwandtschaftlichen Beziehungen der betreffenden Tierarten im System wider: Kuh-, Ziegen- und Schafmilch zeigten viel stärkere Verwandtschaft untereinander als zur Frauenmilch. Die letzten der genannten Autoren sprechen der Komplementbindungsmethode den Vorrang über die anderen Methoden zu. Vermittels der Anaphylaxiereaktion konnten Besredka und Wells verschiedene Milcharten differenzieren.

Eigene Versuche.

Wir haben Antisera gegen Kuhmilch, Kuhmolke, Kuhkaseïn, gekochte Kuhmilch und Frauenmilch, sowie gegen Menschen- und Rinderserum mit ihren homologen Antigenen, sowie jeweils mit den gleichnamigen Substanzen der übrigen Tierarten in Reaktion gebracht und die Resultate auf Tabelle I zusammengestellt.

Zu dieser Tabelle, wie auch zu den folgenden bemerken wir folgendes:

1) Wir haben mit einer Ausnahme (Rinderserum-Antiserum) immer zwei Antisera gegen je ein Antigen geprüft und annähernd gleiche Resultate erhalten; jeder Versuch wurde ferner unter möglichst gleichen Bedingungen wiederholt angestellt. Von den sich ergebenden Resultaten wurden nur diejenigen berücksichtigt, welche in der Mehrzahl gleichsinnig ausgefallen waren. Davon wurde zur Zusammenstellung dieser Tabellen jeweils das markanteste Resultat gewählt. Alle Angaben jedoch, die direkt miteinander verglichen wurden, entstammen ein und demselben Versuch, dessen Protokollnummer immer angeführt ist.

2) Zeichenerklärung. Es bedeuten: — komplette Hämolyse; (?) fast komplette Hämolyse; ? starke Hämolyse; + mäßige Hämolyse; ++ fast keine Hämolyse; +++ keine Hämolyse.

Tabelle I.

Prot.-No.	Antiserum	Antigen			Komplement 0,05—0,06						Komplement 0,035—0,04						Kontrollen	
		Species	Substanz	Antigenmenge	a[1]	a/3	a/9	a/27	a/81	a/243	a	a/3	a/9	a/27	a/81	a/243	Antigen	Antiserum
35	Kuhmilch-Antiserum No. 16, Dosis 0,1	Rind	Milch	0,1	+++	+++	++	—	—	—	+++	+++	+++	++	?	(?)	—	—
		Ziege		0,1	+++	+++	?	—	.	.	+++	+++	+	(?)	.	.	—	—
		Mensch		0,1	?	—	—	.	.	.	+	—	—	.	.	.	—	—
33	Kuhmolken-Antiserum No. 9, Dosis 0,1	Rind	Molke	0,05	+++	+++	?	—	.	.	+++	+++	++	+	.	.	—	—
		Ziege		0,05	?	(?)	—	.	.	.	+	?	—	.	.	.	—	—
		Mensch		0,1	—	—	—	.	.	.	—	—	—	.	.	.	—	—
41	Kuhkaseïn-Antiserum No. 26, Dosis 0,12	Rind	Kaseïn	0,1	+++	++	+	(?)	.	.	+++	+++	++	+	.	.	—	—
		Ziege		0,1	?	(?)	(?)	—	.	.	+	+	+	?	.	.	—	—
		Mensch		0,1	(?)	—	—	.	.	.	+	?	(?)	—	.	.	—	—
42	Kuhkoktolaktoserum No. 29, Dosis 0,15	Rind	gekochte Milch	0,1	+	?	—	—	.	.	++	++	+	?	.	.	—	—
		Ziege		0,1	?	?	(?)	—	.	.	+	+	+	(?)	.	.	—	—
		Mensch		0,1	(?)	(?)	—	.	.	.	+	+	?	.	.	.	—	—
				Antigenmenge	a[1]	a/5	a/25	a/125	a/625	a/3125	a	a/5	a/25	a/125	a/625	a/3125		
24	Frauenmilch-Antiserum No. 21, Dosis 0,12	Mensch	Milch	0,1	+++	+++	+++	++	(?)	—	+++	+++	+++	+++	?	?	—	—
		Rind		0,1	+++	++	?	—	—	—	+++	+++	++	?	—	—	—	—
		Ziege		0,1	++	?	—	—	.	.	+++	++	—	—	.	.	—	—
10	Rinderserum-Antiserum No. 13, Dosis 0,04	Rind	Serum	0,01	+++	+++	+++	+++	.	.	+++	+++	+++	+++	.	.	—	—
		Ziege		0,01	+++	++	—	.	.	.	+++	+++	++	.	.	.	—	—
		Mensch		0,1	—	—	—	.	.	.	—	—	—	.	.	.	—	—
27	Menschenserum-Antiserum No. 24, Dosis 0,125	Mensch	Serum	0,02	—	(?)	+++	+++	++	+	—	+	+++	+++	++	++	—	—
		Rind		0,02	—	—	—	—	—	.	—	—	—	—	—	.	—	—
		Ziege		0,02	—	—	—	—	—	.	—	—	—	—	—	.	—	—

1) Die Antigenmenge a bedeutet die höchste Antigenmenge in jeder absteigenden Reihe; ihre absolute Größe ist für jedes Antigen in seiner Kolonne angegeben.

Es ergeben sich uns folgende Resultate:

1) Die Antisera von ungekochter und gekochter Milch, Kaseïn und Molke der Species Rind reagieren jedes am stärksten mit seinem homologen Antigen, etwas weniger stark mit dem gleichnamigen Antigen der Ziegenmilch und noch schwächer mit demjenigen der Frauenmilch. Die Spezifität zeigt sich am ausgesprochensten beim Molkenantiserum, welches mit Ziegenmolke bedeutend schwächer als mit Kuhmolke, mit Frauenmolke überhaupt nicht reagierte. Kaseïnantiserum hingegen und besonders Koktolaktoserum zeigen den Unterschied der Species viel weniger deutlich.

2) Für Frauenmilch ergeben sich folgende Verhältnisse: stärkste Reaktion mit Frauenmilch (bis $^1/_{31250}$), weniger mit Kuhmilch (bis $^1/_{1250}$), noch schwächer mit Ziegenmilch (bis $^1/_{50}$). Diese Tatsache, daß Frauenmilchantisera mit der Milch so weit (im System) entfernter Tierarten noch so starke Mitreaktion geben und auch umgekehrt Kuhmilchantisera regelmäßig deutlich mit Frauenmilch reagieren, legte den Gedanken nahe, daß es sich bei diesen sogenannten Verwandtschaftsreaktionen der Milch weniger um den Ausdruck verwandtschaftlicher Systemsbeziehungen der verschiedenen Species handle, als um eine gewisse, wenn auch geringe Sekretspezifität von der Art jener Organ- und Sekretspezifität, wie sie sehr ausgesprochen für Linseneiweiß (Uhlenhuth) und auch für Sperma (Pfeiffer) nachgewiesen ist. Daß bei der Sekretspezifität der Milch wohl das Kaseïn eine Hauptrolle spiele (Bauer), scheint auch aus unseren Versuchen hervorzugehen.

3) Für die Annahme besonderer Verhältnisse für die Artspezifität der Milch spricht deutlich das Verhalten der Serum-Antisera der gleichen Tierarten: Rinderserum-Antiserum gibt mit seinem homologen Antigen die stärkste Reaktion, weniger stark, aber noch sehr deutlich mit Ziegenserum, gar keine mit Menschenserum; es verhält sich also ähnlich wie das Kuhmolken-Antiserum. Menschenserum-Antiserum reagiert sehr stark mit seinem homologen Antigen, nicht aber mit Rinder- noch mit Ziegenserum.

Die Spezifität der Eiweißkörper im Vergleich verschiedener Species untereinander scheint also quantitativ viel ausgesprochener zu sein in Blut-

serum und Molke als in frischer und gekochter Milch und Kaseïn.

2. Verhalten der einzelnen Milcheiweißkörper untereinander sowie zu Milch und Serum der gleichen Art.

Wir haben uns ferner mit dem Studium der einzelnen Eiweißkörper der Milch beschäftigt. Schon mehrfach wurden Kaseïn, Parakaseïn, Albumin und Globulin der Milch auf ihr serologisches Verhalten geprüft und sowohl untereinander als auch mit anderen Eiweißkörpern derselben Tierart verglichen, vor allem mit dem Blutserum.

So haben Hamburger, Uhlenhuth und Schütze, Meyer und Klein das Verhältnis von Milch und Serum geprüft, wobei außer den beiden letzten sämtliche Autoren Verwandtschaftsreaktion zwischen Milch und Serum konstatieren konnten. Gegen Kaseïn und Milchalbumin stellte Hamburger Antisera her, die für ihre Antigene spezifisch waren. Ferner haben Gengou, Moro und Schloßmann, P. Th. Müller, Engel, Bauer und Kollmeyer, Amberg, Baumann, Bauereisen und Talbot mit einzelnen oder mehreren Milchbestandteilen Antisera erzeugt, welche für ihr homologes Antigen bis zu einem gewissen Grade spezifisch waren.

Die genannten Autoren erhielten mit Kaseïn, Laktoglobulin und Laktoalbumin Antisera, welche mit ihrem homologen Antigen die stärkste Reaktion ergaben, jedoch auch mit den anderen Milchbestandteilen in Reaktion traten. Und zwar reagierten Laktoglobulin und Laktalbumin untereinander stärker als jedes der beiden mit Kaseïn. — Zum Blutserum zeigten die löslichen Eiweißkörper der Milch (Albumin und Globulin) stärkere Verwandtschaft als das Kaseïn.

Das Verhältnis der Milcheiweißkörper untereinander, sowie zwischen Milch und Serum wurde ferner von Wells, Bauer und Engel, Rosenau und Anderson, von Uhlenhuth und Haendel und Thomsen nach der Anaphylaxiereaktion untersucht, wobei im wesentlichen dieselben Ergebnisse gewonnen wurden, wie mit der Präzipitations- und Komplementbindungsmethode. Michaëlis und Rona, sowie Laroche, Richet fils und St. Girons betonen speziell die starke Verwandtschaft der verschiedenen Milcheiweißkörper untereinander, welche durch die Anaphylaxie sich ihnen ergeben habe.

Für die Annahme einer Sonderstellung des Kaseïns und die nahe Verwandtschaft der Eiweißkörper der Molke und des Serums bilden die Versuche von Graetz eine Stütze, der das Colostrum in serologischer

Beziehung als ein Mittelding zwischen Milch und Blutserum nachwies und zeigte, daß mit diesem Verhalten parallel einhergeht ein relativ geringer Kaseïngehalt und ein relativ hoher Albumin- und Globulingehalt des Colostrums im Vergleiche zur Milch.

Eigene Versuche.

Wir haben Versuche mit Vollmilchantiserum der Kuh- und Frauenmilch, mit Kuhkaseïn- und Kuhmolkenserum angestellt und in Tabelle II die Reaktionen solcher Antisera gegen die drei Antigene: Vollmilch, Kaseïn und Molke zusammengestellt. Auch die heterologen Antigene entstammen also in diesen Versuchen derselben Tierart wie das homologe Antigen selbst.

Ergebnisse: 1) Vor allem fällt uns hier die Erscheinung auf, daß alle diese Antisera mit der Milch die stärkste Reaktion zeigen. Für die Milchantisera ist dies die homologe Reaktion und darum selbstverständlich, nicht so, daß auch Molken- und Kaseïnantisera mit Milch stärker reagieren als mit ihrem homologen Antigen. Nach dem beschriebenen Herstellungsverfahren sollte 1 ccm Molke genau so viel Molkeneiweißkörper, ebenso 1 ccm Kaseïnlösung genau so viel Kaseïn enthalten wie 1 ccm Milch. — Wahrscheinlich stellt die Säuregewinnung und nachfolgende Neutralisierung resp. Auflösung in leicht alkalischer Lösung doch einen erheblichen Eingriff in die Integrität der Eiweißkörper dar (Hamburger, Schloßmann und Moro), so daß diese zum Teil chemisch verändert und so als Antigen unwirksam, also quantitativ vermindert werden. — Außerdem ließe sich diese Erscheinung auch erklären, wenn ein wirkliches Uebergreifen der biologischen Reaktion von Kaseïn auf die Eiweißkörper der Molke und umgekehrt anzunehmen wäre (im Sinne von Pfaundlers Gruppenreaktion), welches Uebergreifen nicht nur aus der unvollkommenen Trennung dieser Substanzen herzuleiten wäre. Unter dieser Annahme würde auch der heterologe Anteil der Vollmilch zur Verstärkung der Reaktion beitragen.

2) Abgesehen von der Reaktion mit Vollmilch geben die genannten Antisera mit ihrem homologen Antigen die stärkste Reaktion; mit jener Einschränkung können wir also die schon genannten Angaben früherer Autoren über die relative Spezifität von Kaseïn- und von Molkenantiserum bestätigen.

Tabelle II [1]).

Proto-koll-No.	Antiserum	Antigen		Komplement 0,045—0,05					Komplement 0,035—0,036				Kontrollen	
		Species	Sub-stanz	Anti-gen-menge	a	a/3	a/9	a/27	a	a/3	a/9	a/27	Anti-gen	Anti-serum
20	Kuhmilch-Anti-serum No. 16, Dosis 0,1	Rind	**Milch**	**0,033**	**+++**	**++**	?	(?)	**+++**	**+++**	**+**	**(?)**	—	—
			Molke	0,033	++	+	—	—	+++	++	?	—	—	—
			Kaseïn	0,033	—	—	—	.	++	(?)	—	.	—	—
33	Kuhmolken-Anti-serum No. 9, Dosis 0,1	Rind	Milch	0,1	+++	+++	++	?	+++	+++	+++	+	—	—
			Molke	**0,05**	**+++**	**+++**	?	**—**	**+++**	**+++**	**++**	**+**	—	—
			Kaseïn	0,1	++	+	—	—	+++	++	—	—	—	—
40	Kuhkaseïn-Anti-serum No. 26 Dosis 0,1	Rind	Milch	0,1	++	+++	+++	++	++	+++	+++	++	—	—
			Molke	0,1	—	?	?	—	?	+	+	(?)	—	—
			Kaseïn	**0,1**	**+++**	**+++**	**+**	**—**	**+++**	**+++**	**++**	**(?)**	—	—
				Anti-gen-menge	a	a/5	a/25	a/125	a	a/5	a/25	a/125		
22	Frauenmilch-Anti-serum No. 21, Dosis 0,12	Mensch	**Milch**	**0,1**	**+++**	**+++**	**+++**	**++**	**+++**	**+++**	**+++**	**+++**	—	—
			Molke	0,1	++	++	++	+	+++	+++	+++	++	—	—
			Kaseïn	0,1	+++	+++	?	—	+++	+++	++	—	—	—

1) Die Reihe des homologen Antigens ist immer durch fetten Druck hervorgehoben.

3) Mit Vollmilchantiserum sowohl der Kuhmilch als der Frauenmilch reagiert die Molke bedeutend stärker als das Kaseïn; es scheinen demnach die Eiweißkörper der Molke stärkere antigene Eigenschaften zu haben als das Kaseïn, welches Verhalten mit unseren Erfahrungen bei der Immunisierung übereinstimmt: mit Molke gelang uns die Immunisierung ohne Schwierigkeit; dagegen hatten wir mit Kaseïn mehrere gänzliche Mißerfolge und erlangten in den günstigen Fällen erst nach 5—6 Injektionen einen brauchbaren Titer.

In auffallendem Gegensatz zu dieser Schwierigkeit beim Immunisieren steht die Erfahrung, daß von 6 mit Kaseïn immunisierten Tieren 3 trotz aller Vorsichtsmaßregeln Zeichen des anaphylaktischen Shocks aufwiesen, während ähnliches mit anderen Antigenen nie beobachtet werden konnte.

Vielleicht treten in diesem Verhalten beim Immunisieren, sodann in der verschiedenen Stärke der antigenen Reaktion gegen Milchantisera und in der verschieden ausgeprägten Artspezifität, zwischen den Eiweißkörpern der Molke und dem Kaseïn doch tiefer greifende Unterschiede zutage, welche für eine Erklärung der Molkenaustauschversuche (Meyer) und der Erfolge der Eiweißmilch (Finkelstein) mitheranzuziehen wären.

4) Wir haben ferner das Verhältnis von Blutserum einerseits, Milch, Molke und Kaseïn andererseits geprüft und auf Tabelle III die diesbezüglichen Resultate zusammengestellt.

Serum-Antisera von Mensch und vom Rind reagieren, wie schon erwähnt, am stärksten mit dem homologen Antigen; es folgen in der Stärke der Reaktion: Milch und Molke mit annähernd gleichem Verhalten, dann viel schwächer das Kaseïn, welches mit Menschenserum nicht mehr regelmäßig eine Reaktion gab. Entsprechend ließ sich bei Milch- und Molkenantiseren eine Komplementbindung mit Blutserum als Antigen noch nachweisen, nicht aber bei Kaseïnantiseren.

Im allgemeinen finden wir also unsere Resultate in Uebereinstimmung mit den Angaben derjenigen Autoren, welche dem Kaseïn in diesen biologischen Reaktionen eine Sonderstellung gegenüber den Eiweißkörpern der Molke und

Tabelle III.

Prot.-No.	Antiserum	Antigen			Komplement 0,05—0,06						Komplement 0,035—0,04						Kontrollen	
		Species	Substanz	Antigenmenge	a	a/3	a/10	a/100	a/1000	a/10 000	a	a/8	a/10	a/100	a/1000	a/10 000	Antigen	Antiserum
31	Menschenserum-Antiserum No. 24, Dosis 0,125	Mensch	**Serum**	**0,1**	—	.	+	+++	+++	?	?	.	++	+++	+++	+++	—	—
			Milch	0,1	+++	+	—	.	.	—	+++	++	(?)	.	.	.	—	—
			Molke	0,1	++	(?)	—	.	.	—	+++	+	(?)	.	.	.	—	—
			Kaseïn	0,1	—	—	—	.	.	—	++	?	—	.	.	.	—	—
				Antigenmenge	a	a/5	a/25	a/125	a/625	a/3125	a	a/5	a/25	a/125	a/625	a/3625		
10	Rinderserum-Antiserum No. 13, Dosis 0,04	Rind	**Serum**	**0,05**	.	+++	+++	+++	+++	.	.	+++	+++	+++	+++	.	—	—
			Milch	0,05	+++	+++	.	+++	.	.	+++	+++	+++	++	.	.	—	—
			Molke	0,05	+++	+++	.	+	.	.	+++	+++	+++	++	.	.	—	—
			Kaseïn	0,05	(?)	—	.	—	.	.	+	—	—	—	.	.	—	—
40	Kaseïn-Antiserum No. 26, Dosis 0,12	Rind	Serum	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
36	Frauenmilch-Antiserum No. 21, Dosis 0,1	Mensch	Serum	0,02	—	—	—	—	—	—	—	—	(?)	(?)	?	+	—	—
				Antigenmenge	a	a/3	a/9	a/27	a/81	a/243	a	a/3	a/9	a/27	a/81	a/243		
35	Kuhmilch-Antiserum No. 16, Dosis 0,1	Rind	Serum	0,1	—	—	—	—	(?)	—	—	—	?	?	(?)	—	—	—
21	Molken-Antiserum No. 9, Dosis 0,1	Rind	Serum	0,033	—	—	—	(?)	(?)	—	—	—	(?)	(?)	(?)	—	—	—

des Blutserums zuerkannt haben. Immerhin möchten wir nach unseren Resultaten allzu weitgehende Schlußfolgerungen gerade in dieser Beziehung nicht ziehen, da das Kaseïn durch die Art seiner Zubereitung doch schweren Veränderungen unterliegt, welche möglicherweise zur Schaffung einer solchen Sonderstellung beitragen könnten.

3. Vergleichung der serologischen Reaktionen von Milch und Milcheiweißkörpern in frischem und in gekochtem Zustande.

Schon P. Th. Müller, Fuld und Baumann haben mit gekochter Milch Antisera erzeugt, und Meyer und Aschoff haben sogar nach 20 Minuten langem Erhitzen auf 120° die präzipitogenen Eigenschaften der Milch nicht zerstört gefunden. Bauer hat beobachtet, daß der Antigencharakter des Kaseïns durch Kochen nicht zerstört wird und nahm auch schon an, daß die Koktostabilität des Milchantigens wohl auf diejenige des Kaseïns zurückzuführen sei. — Nach der Anaphylaxiemethode haben Arthus, Rosenau und Anderson, Besredka, Uhlenhuth und Händel und Wells ähnliche Resultate gefunden. Einige dieser Autoren führen die anaphylaktische Wirkung der gekochten Milch auf die Tatsache zurück, daß das Kaseïn unter dem Einfluß des Kochens nicht gerinnt, während die übrigen Milcheiweißkörper durch die Gerinnung ihrer Wirksamkeit beraubt würden.

In neuester Zeit haben Kudicke und Sachs den Antigencharakter der Milch vor und nach längerem Kochen untersucht. Sie fanden, daß die Milch den Antigencharakter gegenüber Milchantiserum durch das Kochen nicht verliert, wohl aber gegenüber dem Serum-Antiserum; ferner, daß Blutserum als Antigen wohl mit Vollmilchantiserum, nicht aber mit Koktolaktoserum reagiert. Aus diesem Verhalten schlossen sie auf das Vorhandensein koktostabiler und koktolabiler Rezeptoren in der Milch, wovon nur die koktolabilen mit dem Serum Verwandtschaft zeigen, die koktostabilen möglicherweise dem Kaseïn zugehören könnten.

Eigene Versuche.

Wir haben in unseren Versuchen außer den Antiseren gegen frische und gekochte Milch, sowie gegen das Blutserum noch Antisera gegen Molke und Kaseïn miteinbezogen und mit den entsprechenden Antigenen in gekochtem und ungekochtem Zustand in Reaktion gebracht. Auf den Tabellen IV und V sind diese Resultate zusammengestellt. Wir bemerken dazu, daß hierfür sämtliche gekochten Antigene 40 Minuten lang im Wasserbad gekocht wurden.

Tabelle IV.

Protok.-No.	Antiserum	Antigen		Komplement 0,05—0,06					Komplement 0,035—0,04				Kontrollen	
		Species	Substanz	Antigenmenge	a	a/3	a/9	a/27	a	a/3	a/9	a/27	Antigen	Antiserum
33	Molken-Antiserum No. 9, Dosis 0,1	Rind	frische Milch	0,1	+++	+++	++	?	+++	+++	+++	+	—	—
			Molke	0,05	+++	+++	?	—	+++	+++	++	+	—	—
			gekochte Milch	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
41	Kaseïn-Antiserum No. 26, Dosis 0,1	Rind	frische Milch	0,1	++	++	++	?	+++	+++	+++	++	—	—
			Kaseïn	0,1	+++	++	+	(?)	+++	+++	++	+	—	—
			gekochte Milch	0,1	?	(?)	—	—	++	+	(?)	—	—	—
				Antigenmenge	a	a/5	a/25	a/125	a	a/5	a/25	a/125		
10	Rinderserum-Antiserum No. 13, Dosis 0,04	Rind	Serum	0,05	.	+++	+++	+++	.	+++	+++	+++	—	—
			frische Milch	0,05	+++	+++	+++	.	+++	+++	+++	++	—	—
			gekochte Milch	0,05	—	—	—	.	—	—	—	—	—	—
				Antigenmenge	a	a/3	a/10	a/100	a	a/3	a/10	a/100		
31	Menschenserum-Antiserum No. 24, Dosis 0,125	Mensch	Serum	0,1	—	.	+	+++	?	.	++	+++	—	—
			frische Milch	0,1	+++	+	—	.	+++	++	(?)	.	—	—
			gekochte Milch	0,1	—	—	—	.	+	+	—	.	—	—

1) Auf Tabelle IV bemerken wir sofort, daß jene oben erwähnte Erscheinung, wonach die Milch auch mit dem Antiserum der einzelnen Milchbestandteile am stärksten reagiert, nur für die frische Milch zutrifft; die gekochte Milch als Antigen reagiert mit Kaseïnantiserum bedeutend schwächer als das homologe Antigen, mit Molkenantiserum gar nicht. — Mit Serum-Antiserum erhielten wir teils sehr schwache, teils gar keine Reaktion.

Man könnte diese Tatsachen auf zweierlei Weise erklären:

a) das Kochen setzt ganz allgemein die wirksame Quantität des Milchantigens herab, indem es einen schweren Eingriff in die Konstitution aller Eiweißkörper darstellt;

b) durch das Kochen wird speziell ein Faktor in der Milch ungünstig getroffen, so daß er als Antigen unwirksam wird: nämlich die Eiweißkörper der Molke; da diese ja auch mit dem Serum-Antiserum stärker reagieren als das Kaseïn (s. Tabelle III), so wäre auch die schwache Reaktion der gekochten Milch mit Serum-Antiserum damit erklärt.

Wahrscheinlich spielen beide Arten der Kochwirkung eine Rolle, wie im folgenden noch deutlicher werden soll.

2) Wenn wir auf Tabelle V das Verhalten von Milchantiserum und von Koktolaktoserum miteinander vergleichen, sehen wir zuerst, daß auch mit Koktolaktoserum, ähnlich wie mit Kaseïn- und Molkenantiserum, die frische Milch stärker reagiert als das homologe Antigen, in diesem Falle stärker als die gekochte Milch selbst.

3) Außerdem fällt die relativ starke Reaktion des Kaseïns (im ungekochten und gekochten Zustand) mit dem Koktolaktoserum auf; im Gegensatz dazu die schwache Reaktion der Molke.

4) Mit Vollmilchantiserum dagegen reagiert die gekochte Milch bedeutend schwächer als die frische Milch und auch schwächer als Molke; die Reaktion entspricht etwa derjenigen des Kaseïns.

5) Koktolaktosera geben zum Unterschied von Vollmilchantiserum (s. Tabelle III) mit Blutserum keine Reaktion (in Bestätigung der Angaben von Kudicke und Sachs).

Tabelle V.

Prot.-No.	Antiserum	Antigen		Komplement 0,05					Komplement 0,035				Kontrollen	
		Species	Substanz	Antigenmenge	a	a/3	a/9	a/27	a	a/3	a/9	a/27	Antigen	Antiserum
39	Koktolaktoserum No. 29, Dosis 0,15	Rind	frische Milch	0,1	+	?	?	—	++	++	+	(?)	—	—
			Molke	0,1	—	—	—	—	?	?	(?)	—	—	—
			Kaseïn	0,1	++	?	(?)	—	++	+	?	—	—	—
			gekochtes Kaseïn	0,1	++	?	—	—	++	+	(?)	—	—	—
			gekochte Milch	**0,1**	**++**	**+**	**—**	**—**	**++**	**++**	?	**—**	—	—
20	Kuhmilch-Antiserum No. 16, Dosis 0,1	Rind	frische Milch	0,033	+++	++	?	(?)	+++	+++	+	?	—	—
			Molke	0,033	++	+	—	—	+++	++	?	—	—	—
			Kaseïn	0,033	—	—	—	.	++	(?)	—	.	—	—
			gekochte Milch	0,033	?	—	—	.	+	?	—	.	—	—
				Antigenmenge	a	a/5	a/25	a/125	a	a/5	a/25	a/125		
22	Frauenmlich-Antiserum No. 21, Dosis 0,1	Mensch	frische Milch	0,1	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	—	—
			Molke	0,1	++	++	++	+	+++	+++	+++	++	—	—
			Kaseïn	0,1	+++	+++	?	—	+++	+++	++	—	—	—
			gekochte Milch	0,1	++	+	?	—	+++	++	+	?	—	—
38	Koktolaktoserum No. 28, Dosis 0,2	Rind	Serum	0,02	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

In allen angestellten Versuchen, sei es im Vergleich des Verhaltens zum Serum und zur frischen Milch, oder sei es im Vergleich von Molke, Kaseïn und gekochter Milch untereinander, zeigte sich eine weitgehende Uebereinstimmung des Antigencharakters der gekochten Milch mit demjenigen des Kaseïns, sowie eine Sonderstellung beider gegenüber den Eiweißkörpern des Blutserums und der Molke. Wir finden also die Annahme von Bauer, sowie von Kudicke und Sachs nach allen Richtungen hin bestätigt, daß der koktostabile Antigenteil der Milch dem Kaseïn angehöre, während die Molkeneiweißkörper ähnlich wie die Eiweißkörper des Blutserums durch längeres Kochen ihren Antigencharakter verlieren.

Damit stimmt es völlig überein, daß wir von gekochter Molke und gekochtem Blutserum nie mit irgendeinem Antiserum eine positive Reaktion erhalten konnten, welche nicht noch im Bereich der Selbstablenkung gelegen war; diese unspezifische Selbstablenkung spielte hingegen bei diesen Eiweißkörpern im gekochten Zustand eine ungewöhnlich große, ziemlich unberechenbare Rolle.

Wir haben schließlich noch die Frage geprüft, welchen Einfluß die Dauer des Kochens auf den Antigencharakter der Milch und des Kaseïns ausübe. Kudicke und Sachs geben an, daß die Vernichtung der koktolabilen Rezeptoren in der Milch nach 10 Minuten langem Kochen schon fast gänzlich vollzogen sei, während nach einmaligem Aufkochen sich die Milch noch wie ungekochte Milch verhalte; jedenfalls gebe 30 Minuten lang gekochte Milch sicher nur noch die Reaktion der koktostabilen Rezeptoren allein.

Wir haben je ein Vollmilch- ein Molken- und ein Kaseïnantiserum, sowie zwei Koktolaktosera gegen Milch geprüft, welche in verschiedener Dauer und Temperatur erhitzt worden war, und zwar in den Abstufungen: frische Milch, Milch, 12, 24, 48 Minuten lang im Wasserbad gekocht, Milch, 20 Minuten lang auf 120° erhitzt.

Gegenüber allen Antiseren, selbst gegenüber Koktolaktoserum nimmt die Stärke der Reaktion des Milchantigens ab mit zunehmender Dauer des Kochens resp. mit zunehmendem Grad der Erhitzung; jedoch auch längeres Kochen (48 Minuten) genügte nicht, die Reaktion gänzlich zum Verschwinden zu

Tabelle VI.

Prot.-No.	Antiserum	Antigen		Komplement 0,044—0,05					Komplement 0,033—0,036				Kontrollen	
				Antigenmenge	a	a/3	a/9	a/27	a	a/3	a/9	a/27	Antigen	Antiserum
44	Frauenmilch-Antiserum No. 21, Dosis 0,1	Frauenmilch	frisch	0,1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
			gekocht 12′ bei 100°	0,1	+++	++	?	(?)	+++	++	+	?	—	—
			„ 24′ „ 100°	0,1	?	—	—	—	+	?	(?)	—	—	—
			„ 48′ „ 100°	0,1	—	—	—	—	?	?	(?)	—	—	—
			erhitzt 20′ „ 120°	0,1	—	—	—	—	(?)	(?)	—	—	—	—
45	Molken-Antiserum No. 9, Dosis 0,17	Kuhmilch	frisch	0,1	+++	+++	++	(?)	+++	+++	++	?	—	—
			gekocht 12′ bei 100°	0,1	+	?	—	—	+	+	?	—	—	—
			„ 24′ „ 100°	0,1	?	(?)	—	—	+	?	(?)	—	—	—
			„ 48′ „ 100°	0,1	—	—	—	—	(?)	?	—	—	—	—
			erhitzt 20′ „ 120°	0,1	—	—	—	—	?	(?)	—	—	—	—
49	Kaseïn-Antiserum No. 26, Dosis 0,1	Kuhmilch	frisch	0,1	++	++	+	?	+++	+++	++	++	—	—
			gekocht 12′ bei 100°	0,1	+	?	?	—	++	++	+	+	—	—
			„ 24′ „ 100°	0,1	?	(?)	—	—	+	?	?	—	—	—
			„ 48′ „ 100°	0,1	(?)	(?)	—	—	(?)	?	(?)	—	—	—
			erhitzt 20′ „ 120°	0,1	—	—	—	—	(?)	?	—	—	—	—
48	Koktolaktoserum No. 29, Dosis 0,1	Kuhmilch	frisch	0,1	++	++	+	+	++	++	++	+	—	—
			gekocht 12′ bei 100°	0,1	++	+	?	—	++	++	+	(?)	—	—
			„ 24′ „ 100°	0,1	+	+	—	—	++	+	?	—	—	—
			„ 48′ „ 100°	0,1	+	—	—	—	+	+	—	—	—	—
			erhitzt 20′ „ 120°	0,1	?	—	—	—	?	—	—	—	—	—

bringen, ebensowenig 20 Minuten langes Erhitzen im Autoklaven (dies in Uebereinstimmung mit den Ergebnissen früherer Autoren). Dennoch darf angesichts der kontinuierlichen Abnahme der Reaktionsfähigkeit bei zunehmender Dauer des Kochens der Begriff der Koktostabilität des Milchantigens nicht in absolutem Sinne verstanden werden.

Daß das Kaseïn als Antigen ebenfalls dem Kochen in erheblichem Grade widersteht, haben wir schon gezeigt (in Tabelle V). Wir untersuchten auch für das Kaseïn die Reaktion bei verschiedenem Grad und verschiedener Dauer des Erhitzens (s. Tabelle VII). Mit Kaseïnantiserum wurden in Reaktion gebracht: ungekochtes Kaseïn; Kaseïn, 12, 24, 48 Minuten lang gekocht, und dazu Kaseïn, das 20 Minuten lang auf 120° erhitzt worden war. Dabei ist zu bemerken, daß das Kaseïn unter diesen Prozeduren keinerlei Flockung oder Trübung und auch keine wesentliche Eigenhemmung aufwies.

Tabelle VII.

Prot.-No.	Antiserum	Antigen	Komplement 0,044					Komplement 0,033				Kontrollen	
			Antigenmenge	a	$a/_3$	$a/_9$	$a/_{27}$	a	$a/_3$	$a/_9$	$a/_{27}$	Antigen	Antiserum
49	Kaseïn-	Kuhkaseïn frisch	0,1	++	+	?	(?)	++	++	+	?	—	—
	Anti-	gekocht 12′ bei 100°	0,1	+	?	—	—	+	+	?	(?)	—	—
	serum	„ 24′ „ 100°	0,1	(?)	—	—	—	+	?	?	—	—	—
	No. 26,	„ 48′ „ 100°	0,1	—	—	—	—	?	?	—	—	—	—
	Dosis 0,1	erhitzt 20′ „ 120°	0,1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Zu diesem letzten Versuche muß bemerkt werden, daß das Komplement trotz der relativ geringen Konzentration außerordentlich wirksam war und die Hämolyse sehr rasch eintrat. Die starke Abnahme der Antigenwirkung bei längerem Kochen ist vielleicht zum Teil auf diesen besonderen Umstand zurückzuführen. Leider war mit diesem Versuch unser Antiserumvorrat erschöpft, so daß wir den Versuch nicht wiederholen konnten. Immerhin sehen wir deutlich, wie auch hier die Stärke der Reaktion abnimmt mit zunehmender Dauer des Kochens, wie sie zwar bei 48 Minuten langem Kochen noch nicht gänzlich verschwindet, wohl aber bei 20 Minuten langem Erhitzen auf 120°.

Wir möchten, angesichts dieser konstanten Abnahme der antigenen Eigenschaft von Milch und Kaseïn gemäß der Dauer des Kochens, vorschlagen, anstatt von der Koktostabilität, besser von einer relativen Thermoresistenz des Milch- und Kaseïnantigens zu sprechen.

Zusammenfassung.

Die Prüfung von Frauen-, Kuh- und Ziegenmilch nach der Komplementbindungsmethode hat ergeben:

1) Frauenmilch-Antisera sind auch imstande, mit Kuhmilch und in geringem Grade mit Ziegenmilch zu reagieren, ebenso Kuhmilch-Antisera mit Frauenmilch. In ähnlicher Weise reagieren Kuhkaseïn-Antisera und Kuhkoktolaktosera auch mit Frauenkaseïn resp. gekochter Frauenmilch.

Dagegen tritt weder zwischen Antiserum, das durch Injektion von Menschenserum gewonnen worden war (Menschenserum-Antiserum), und Rinder- oder Ziegenserum, noch zwischen Rinderserum-Antiserum und Menschenserum eine Reaktion auf. Wie die Serum-Antisera verhalten sich auch die Molkenantisera.

2) Mit Molke und mit Kaseïn gewonnene Antisera reagieren mit Vollmilch stärker als mit dem zur Immunisierung verwendeten Bestandteil der Milch.

Vollmilch- und Molken-Antisera bedingen, wenn auch in geringem Grade, eine Komplementablenkung mit dem Blutserum der betreffenden Tierart, während Kaseïnantisera und Koktolaktosera dies nicht tun. Diese Sonderstellung des Kaseïns ist möglicherweise durch die schweren Eingriffe bei seiner Herstellung mitbedingt, und wir möchten daher nicht allzu weitgehende Schlußfolgerungen daraus ableiten.

3) Koktolaktosera, die mittels Injektion von gekochter Milch gewonnen wurden, erwiesen sich als viel weniger wirksam als die mit frischer Milch erhaltenen Antisera. Ebenso zeichnen sich die gekochte Milch und die gekochten Milchbestandteile vor allem dadurch aus, daß sie mit allen Antiseren (auch mit Koktolaktoseren) weniger stark reagieren als in ungekochtem Zu-

stande. Immerhin trat gekochtes Kaseïn mit zahlreichen Antiseren noch in deutliche Reaktion, gekochte Molke dagegen niemals.

Koktolaktoserum reagiert stärker mit Kaseïn als mit Molke, während Milchantiserum mit Molke stärkere Reaktion zeigt als mit Kaseïn. Gekochte Milch tritt mit Kaseïnantiserum in Reaktion, nicht aber mit Molkenantiserum. Eine gewisse Uebereinstimmung der Reaktionen der gekochten Milch mit denjenigen des Kaseïns geht also auch aus unseren Versuchen hervor.

4) Von den einzelnen Milchbestandteilen zeigt die Molke ähnliche spezifische Eigenschaften wie das Blutserum, währenddem die Tierspezifität des Kaseïns nicht in gleichem Grade vorhanden ist. Auf Grund unserer Versuche können wir von einer, wenn auch wenig ausgesprochenen, Spezifität der Milch im Sinne der Organspezifität der Linse sprechen, welche hauptsächlich auf den Kaseïngehalt zurückzuführen ist.

5) Bei verschieden langem und verschieden hohem Erhitzen der Milch und ebenso der Kaseïnlösung zeigt sich, daß die Reaktion mit verschiedenen Antiseren in der Stärke um so mehr abnimmt, je länger das Milch- oder Kaseïnantigen gekocht und je höher es erhitzt worden war. Wir schlagen deshalb vor, an Stelle des Ausdruckes „Koktostabilität" den zutreffenderen der relativen Thermoresistenz des Milch- und des Kaseïnantigens zu gebrauchen.

Literaturverzeichnis.

Amberg, Journ. of med. Research., Vol. 12, 1904.
Arthus, Compt. rend. Acad. Sc., T. 148, 1909, No. 15.
Bauer, Arb. a. d. Kgl. Inst. f. exper. Therapie zu Frankfurt, 1907, Heft 3.
— Münch. med. Wochenschr., 1908, No. 16.
— Ergebnisse d. inneren Med. u. Kinderheilk., Bd. 5, p. 183.
— Deutsche med. Wochenschr., 1909, No. 38.
— Verhandlungen deutscher Naturforscher und Aerzte, 1909.
— Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap., Bd. 7, 1909, Heft 2.
— Berliner klin. Wochenschr., 1910, No. 18.
— und Engel, Biochem. Zeitschr., Bd. 31, 1911, p. 46.
— und Steffenhagen, Med. Klinik, 1909, No. 51.
Bauereisen, Habilitationsschrift. Arch. f. Gynäkol., Bd. 90, 1910, Heft 2.
— Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911, p. 306.

Baumann, Hyg. Rundschau, Bd. 14, 1904.
Besredka, Annales Pasteur, T. 23, 1909, No. 2.
Bordet, Annales Pasteur, 1898, 1899, 1900.
Engel, Biochem. Zeitschr., 1908, No. 14, p. 234.
— Biochem. Zeitschr., 1908, No. 13, p. 89.
Finkelstein und Meyer, Monatsschr. f. Kinderheilk., Bd. 8, 1909, No. 1.
— — Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 71, 1910.
Fish, Courier of Med. St. Louis. Febr. 1900.
Fuld, Hofmeisters Beitr. zur chem. Physiol. u. Pathol., Bd. 2, 1902.
Gengou, Annales Pasteur, T. 16, 1902, p. 25.
Graetz, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Therapie, Bd. 9, 1911, Heft 5.
Hamburger, Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 65, Ergänzungsheft.
— Wiener klin. Wochenschr., 1901, No. 49.
— Wiener klin. Wochenschr., 1904, No. 5.
— und Reuß, Wiener klin. Wochenschr., 1904, No. 31.
Klein, Folia microbiologica, 1912, Heft 1 u. 2.
Kleinschmidt, Monatsschr. f. Kinderheilk., Bd. 10, 1911, No. 8.
Kollmeyer, Zeitschr. f. Biol., Bd. 54, 1910, p. 64.
Kudicke und Sachs, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Therap., Bd. 20, 1914, p. 316.
Laroche, Richet fils et St. Girons, Compt. rend. Soc. Biol., T. 70, 1911, p. 169.
Meyer und Aschoff, Berliner klin. Wochenschr., 1907, No. 27.
Michaëlis und Rona, Pflügers Arch. f. Physiol., Bd. 121—124, 1909 u. 1910.
Moro, Wiener klin. Wochenschr., 1901, No. 44.
Müller, P. Th., Münch. med. Wochenschr., 1902, p. 272.
— Arch. f. Hygiene, Bd. 14, 1902.
— Centralbl. f. Bakteriol., Bd. 32, 1902.
— Centralbl. f. Bakteriol., Bd. 34, 1903.
Pfaundler, Münch. med. Wochenschr., 1899, No. 15.
Pfeiffer, Verh. deutscher Naturforscher u. Aerzte in Meeran, 1905, No. 24.
Rosenau und Anderson, Hygien. Labor. Washington Bull., No. 50, 1909.
Schloßmann, Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 22, p. 197.
— und Moro, Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 14.
Schütze, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, 1901.
— Vereinsblatt der Deutschen med. Wochenschr., 1902, No. 1.
Talbot, Jahrb. f. Kinderheilk., Bd. 73, 1911.
Thomsen, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 3, 1909.
Uhlenhuth, Festschrift für Robert Koch, 1903.
— und Haendel, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 4, 1910.
— — Ergebnisse der wissenschaftl. Medizin, 2. Jahrg., 1910, Heft 1.
Wassermann und Schütze, Deutsche med. Wochenschr., 1900. Vereins beilage No. 30.
Wells, Journ. of Infect. Diseas., Vol. 5, 1908, No. 4.

[Aus der pathologischen Abteilung der Vanderbilt School of Medicine, Nashville, Tenn., U. S. A.]

Zur biologischen Bedeutung der ungesättigten Fettsäuren.

II. Mitteilung[1]).

Von **James W. Jobling** und **William F. Petersen.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 30. Januar 1915.)

In einer vorhergehenden Arbeit (1) berichteten wir über Experimente mit Fermenthemmungskörpern der Tuberkelbacillen, über das Serumantitrypsin, über die Giftigkeit des antitrypsinfreien Serums (Serotoxin) und zeigten, daß es bei der Anaphylatoxinbildung zu einer Adsorption der Serumlipoide kommt, wodurch eine Freilegung der Serumeiweißkörper zu der fermentativen Zerlegung derselben führt, mit darauf folgender Erscheinung von giftigen Spaltprodukten.

Zur Frage der Eiweißspaltung bei der Anaphylaxie.

Vor kurzem hat v. Behring (2) interessante Beobachtungen über den Zusammenhang von Gerinnungserscheinungen in den Cerebralgefäßen und dem akuten anaphylaktischen Shock veröffentlicht, worin er die Hauptrolle in der Veränderung der Thrombocyten sucht. Trotzdem wir bei der Anaphylatoxinbildung uns vollständig auf die Seite der physikalischen Theorie stellen und selbst die große Bedeutung der Gerinnungsveränderungen bei der Anaphylaxie hervorgehoben haben (3), deuten doch etliche Experimente, welche wir vor kurzem veröffentlicht haben, darauf hin, daß die relative Freilegung der Eiweißkörper durch die Beseitigung des Antiferments einen bedeutenden Einfluß auf das anaphylaktische Syndrom ausüben kann und somit eine gewisse Stütze für die Beteiligung der Eiweißspaltung bei der Anaphylaxie gebracht wird (4).

---

1) Die betreffende Literatur ist in verschiedenen Studien, welche im Journal of experimental Medicine erschienen, vollständig berücksichtigt worden.

Daß aber die Gerinnungserscheinungen auch an diesem fermentativen Umschwunge eng beteiligt sind, ist sehr wahrscheinlich, nicht nur durch den Anteil der proteolytischen Fermente, sondern auch im Zusammenhang mit den Lipoiden und fettspaltenden Fermenten des Serums (Stuber, 5).

Nimmt man eine 1-proz. Lösung von Serum-Albumin (Pferd), nach der üblichen Aussalzungsmethode zubereitet, so findet man, daß die Lösung dem Trypsin gegenüber sehr widerstandsfähig ist, da das Antiferment noch in der Albuminfraktion vorhanden ist.

Wird eine solche Lösung mit Chloroform extrahiert, so schwindet allmählich diese Resistenz. Durch 0,1 ccm Trypsinlösung (genug, um 2 ccm 1-proz. Kaseïn in 1 Stunde zu verdauen) wurde an 2 ccm der Originallösung nur 0,1 mg Stickstoff verdaut, und die antitryptische Hemmung der Lösung betrug dem Kaseïn gegenüber etwa 86 Proz.

Nach Chloroformextraktion von 24 Stunden wurden schon 0,35 mg von derselben Trypsinmenge verdaut und die antitryptische Hemmung betrug nur 33 Proz. Nach 72-stündiger Chloroformeinwirkung bei 37° C war die antitryptische Hemmung verschwunden.

Die Originallösung war für Meerschweinchen ungiftig (5 ccm). Nach 2-stündiger Chloroformextraktion ergab sich folgendes Resultat:

Serumalbumin 1-proz. Lösung	Gewicht	Dosis pro Gramm Meerschweinchen	Resultat
4 ccm	200 g	0,02 ccm	Sofortiger Tod. Herzblut geronnen. Lungen gebläht
2 „	190 „	0,01 „	Keine Symptome
	nach 24-stündiger Extraktion:		
2,4 „	240 g	0,01 ccm	Tod in 2 Minuten. Herzblut geronnen
0,9 „	180 „	0,005 „	Keine Symptome
	nach 72-stündiger Extraktion:		
1,0 „	210 g	0,005 ccm	Schwer krank. Krämpfe. Allmähliche Erholung

Mit dem Verlust an Widerstandskraft stellt sich also eine erhöhte Giftigkeit für nicht sensibilisierte Tiere ein.

Auch im sensibilisierten Tiere ist dieser Unterschied zu beobachten, wie folgendes Experiment zeigt:

Meerschweinchen wurden am 13. April mit Pferdeserum sensibilisiert, und am 20. Mai wurde die 1-proz. Pferdeserum-Albuminlösung intravenös eingespritzt.

Die mittlere letale Dosis betrug etwa 0,0025 ccm pro Gramm Meerschweinchen:

Serumalbumin 1-proz. Lösung	Gewicht	Dosis pro Gramm Meerschweinchen	Resultat
3 ccm	300 g	0,01 ccm	Tod in 2 Minuten. Typisch anaphylaktischer Shock und Sektionsbefund
1,5 „	300 „	0,005 „	Dgl.
0,9 „	360 „	0,0025 „	Shock; überlebt
0,77 „	310 „	0,0025 „	Typischer Tod in 3 Minuten
0,32 „	270 „	0,0012 „	Kratzen, keine weiteren Symptome

Dagegen stellte sich die mittlere letale Dosis mit dem extrahierten Materiale (48 Stunden bei 37° C unter Chloroform) als weit geringer heraus, so daß 0,0006 ccm pro Gramm Meerschweinchen eine sichere tödliche Dosis darstellte:

Serumalbumin 1-proz. Lösung	Gewicht	Dosis pro Gramm Meerschweinchen	Resultat
0,0072 ccm	290 g	0,0025 ccm	Typischer Tod
0,0036 „	290 „	0,0012 „	„ „
0,002 „	320 „	0,0006 „	„ „
0,001 „	300 „	0,0003 „	Sofortige Krämpfe. Schwer krank. Allmähliche Erholung

Mit der Freilegung des Serumalbumins durch Extraktion wurde die Giftigkeit im sensibilisierten Tiere um das Vierfache erhöht.

Es wird aber nicht nur die Giftigkeit des Anatoxins, wie v. Behring das wirksame Agens bei der Reinjektion nennt, durch seine Widerstandskraft gegenüber der tryptischen Verdauung beeinflußt, sondern der akute Shock steht auch mit der Antifermentmenge im Tiere im Zusammenhange.

In einer vorhergehenden Mitteilung (6) zeigten wir unter anderem, daß es möglich ist, den Antitrypsintiter von hungernden Kaninchen durch subkutane Einspritzungen der Serumlipoide, oder noch bequemer, der Fettkörper des Eigelbes, zu

erhöhen, so daß eine gewisse erhöhte Resistenz gegenüber Eiweißzerfallsintoxikation, wie dieselbe im Hungertode zutage tritt, ermöglicht wird.

So fanden wir auch eine erhöhte Resistenz gegenüber dem akuten anaphylaktischen Shock bei Meerschweinchen, in denen der Antitrypsintiter erhöht war.

9 Meerschweinchen wurden am 1. Juli mit Pferdeserum sensibilisiert, 5 davon bekamen je 1 ccm Eifett subkutan am 29. Juni, am 10. und 16. Juli. Am 17. Juli wurde die mittlere letale Dosis einer 1-proz. Lösung von Pferdeserumalbumin bei den Kontrolltieren festgestellt.

Serumalbumin 1-proz. Lösung	Gewicht	Dosis pro Gramm Meerschweinchen	Resultat
0,425 ccm	170 g	0,0025 ccm	Kein Effekt
1,15 „	230 „	0,005 „	Sofortige Krämpfe und Dyspnoë. Nach 30 Minuten Erholung
2,95 „	295 „	0,01 „	Tod in 2 Minuten. Typisch
2,75 „	275 „	0,01 „	Dgl.

Die Tiere mit erhöhtem Antifermentgehalt reagierten folgendermaßen:

Serumalbumin 1-proz. Lösung	Gewicht	Dosis pro Gramm Meerschweinchen	Resultat
3,6 ccm	360 g	0,01 ccm	Sofort Krämpfe und Dyspnoë; allmähliche Erholung. Nach 10 Minuten wieder normal
2,9 „	290 „	0,01 „	Kratzen, keine weiteren Symptome
2,35 „	235 „	0,01 „	Keine Symptome
2,37 „	190 „	0,0125 „	„ „
4,8 „	240 „	0,02 „	Sofort Krämpfe und Dyspnoë, welche 20 Minuten anhielten. Darauf vollständige Erholung

Schon Rusznyak (7) vermutete — obwohl er einen irrigen Begriff über die Natur des Antitrypsins hatte — daß die Antifermenterhöhung, die dem Shock folgt, einen gewissen Einfluß auf eine darauf folgende Injektion ausüben würde.

Wenn auch die Bedenken, welche v. Behring gegen die Eiweißspaltungstheorie hervorhebt, d. h. zeitliche und quantitative Verhältnisse, sowie schnelle Erholung nach einer subletalen Dosis, gewiß wichtig sind und eine Gerinnungserklärung gerade diese beseitigen würde, so stehen die oben angegebenen Experimente doch im Einklange mit der Spaltungstheorie, indem die erleichterte Verdaulichkeit des Eiweißes mit einer erhöhten Giftigkeit, und ein erhöhter Antifermenttiter

mit einer erhöhten Resistenz vereint sind. Trotzdem ist es möglich, daß gemeinsame Prozesse die Gerinnungserscheinungen und die anaphylaktischen Reaktionskörper verbinden. Daß das Antiferment (ungesättigte Lipoide) an der Gerinnung beteiligt ist, ist sehr wahrscheinlich bei der allgemeinen Anerkennung der Bedeutung der Serumlipoide für den Prozeß (Bordet, Stuber, Howell).

Ueber Bakterienantifermente.

Nachdem wir die antitryptische Eigenschaft der ungesättigten Lipoide festgestellt hatten, untersuchten wir die Ursache der Resistenz der Bakterien den proteolytischen Fermenten gegenüber (8).

Kruse, Fermi, Kantorowicz und Weinkopf haben sich mit diesem Thema beschäftigt. Kantorowicz beobachtete unter anderem, daß die antifermentative Eigenschaft nach Zertrümmerung der Bakterien durch Azetonextraktion verloren ging. In einer früheren Arbeit zeigten wir, daß die ungesättigten Lipoide der Tuberkelbacillen antitryptische Eigenschaften besitzen.

Es ist sehr wahrscheinlich, daß das Trypsin und die sonstigen proteolytischen Fermente gegen den intakten Bakterienkörper inaktiv sind, weil ihnen kein Substrat geboten wird. Ist ein Gleichnis mit Pflanzenzellen gestattet, so sind Eiweißkörper aus der Membran ausgeschlossen, und bei tierischen Zellen ist die Membran wenigstens potentiell von Lipoidkörpern gebildet [s. unter anderen Loeb und Beutner (9)]. So gewinnt auch die Ansicht immer mehr Anhang, daß es gerade die lipolytischen Fermente sind, welche die Zellmembran angreifen können. Oppenheimer z. B. schreibt: „Ich hatte diese Stoffe (Cytolysine) früher unter die Fermente gerechnet, weil die Ansicht vorherrschte, daß die Zerstörung der Zellmembran das Werk eines spezifisch gerichteten proteolytischen Fermentes sei. Diese Ansicht kann als aufgegeben gelten. ... Es ist aber leicht möglich, daß sie (die Cytolysinreaktionen) später einmal an einer anderen Stelle, nämlich unter den Lipasen, wieder auftauchen."

Auch Metschnikoff beobachtete, daß der Darm gewisser Motten auffallend frei von Bakterien war, vermutete

dabei den Anteil der Darmfermente, wohl gerade der fettspaltenden, in Anbetracht der Ernährung dieser Insekten. Die Resistenz der intakten Bakterienkörper den proteolytischen Fermenten gegenüber ist vollkommen und gleichmäßig, und unabhängig von der Bakterienart und den Wachstumsverhältnissen. Trocknen wir nun solche Bakterien, so können wir vermuten, daß diese gleichmäßige Resistenz, welche von einer kolloiden Membran abhängig ist, eine mehr oder wenig größere Veränderung erfahren würde, wenn die Membran durch Dispersitätsveränderungen den Fermenten erschlossen würde. Die vollständige Resistenz intakter Bakterienleibeskörper sollte demnach einer relativen Resistenz weichen, je nach der eigentlichen Antifermentmenge der Bakterien. So beobachtete Fermi z. B., daß getrocknete Colibacillen verdaut wurden.

Der Lipoidgehalt der Organismen schwankt innerhalb gewisser Grenzen, je nach der Zusammensetzung des Nährbodens. Wir fanden den Gehalt verschiedener Bakterienarten etwa, wie folgt:

Tuberkelbacillen	32,70	Proz.,
Staphylokokken	4,51—8,50	„
Diphtheriebacillen	5,50—7,50	„
Typhusbacillen	7,00—8,20	„
Colibacillen	4,20—8,15	„
Subtilis	1,7	„

Diese Zahlen beziehen sich auf die vollständigen ätherlöslichen Bestandteile nach der Auflösung der Bakterienkörper in Kalilauge, mit darauf folgender Ansäuerung. Die einfache Soxhlet-Extraktion ergibt Resultate, welche durchweg zu niedrig sind, indem die Protein-Lipoidverbindungen nicht vollkommen durch die gewöhnlichen Lösungsmittel gespalten werden. Die Jodzahl dieser Bakterienlipoide ergab folgende Resultate:

Lipoide	aus	Tuberkelbacillen	20	(24,2 für die Fettsäuren)
„	„	Staphylokokken	60—91	
„	„	Diphtheriebacillen	80—100	
„	„	Typhusbacillen	33—38	
„	„	Colibacillen	32—40	
„	„	Subtilisbacillen	40?	
„	„	Tetanusbacillen	44?	

Diese Zahlen sind aber als approximative zu betrachten, da uns nur kleine Quantitäten zur Verfügung standen und die Jodbestimmung nicht immer ein absolut sicheres Resultat erzielt. Wir hoffen aber, an größeren Quantitäten weitere Experimente zu machen. Gesetzt den Fall, daß die ungesättigten Lipoide für die Antifermenteigenschaft verantwortlich sind, so könnten wir verlangen, a) daß durch Extraktion die Bakterien leichter verdaut werden, b) daß die Verdauung verschiedener Organismen ein relatives Verhältnis zu der ungesättigten Lipoidmenge zeigen wird, c) daß die extrahierten Lipoide antitryptisch wirksam sind. Schon Müller (10) beobachtete, daß extrahierte Typhusbacillen den Leukocyten gegenüber weniger Widerstandskraft zeigten. So zeigen auch Tuberkelbacillen nach der Extraktion eine größere Verdauung durch Trypsin, wie im folgenden Protokoll zu ersehen ist:

Bakteriensuspension 1 ccm	Lipoidgehalt	Gesamt-N	N verdaut	Proz.
Tuberkelbacillen, getrocknet	31,2 Proz.	0,55 mg	0,13 mg	23
Tuberkelbacillen (extrahiert durch Aether, Chloroform u. Alkohol)	9 „	0,74 „	0,33 „	44
Tuberkelbacillen (extrahiert im Soxhlet; Aether 120 Stunden, Alkohol 100 Stunden, Benzol 50 Stunden)	7 „	0,80 „	0,46 „	57

Vergleichen wir nun die Verdauung an verschiedenen Bakterienarten, so zeigt sich, daß der Gehalt an ungesättigten Lipoiden dem Widerstand der Bakterien proportional ist. Ein solches Experiment ist im folgenden wiedergegeben:

	Lipoidgehalt	Jodzahl	Antiferment-index	Verdauung
Diphtheriebacillen	7 Proz.	80	560	18 Proz.
Staphylokokken	8 „	60	480	23 „
Typhusbacillen	8 „	30	240	24 „
„ (extrahiert)	?	?	?	56 „
Colibacillen	4 „	40	160	40 „
Tuberkelbacillen (extrahiert)	7 „	20	140	40 „

Daß die Lipoide nach der Extraktion antitryptisch sind, ist sehr leicht zu beweisen. Es wurden z. B. die Lipoide

aus gleichen Mengen Staphylokokken und Colibacillen extrahiert. Die respektive Jodzahl betrug 97 und 32. Ein Teil der Lipoidkörper wurde verseift und die antitryptische Eigenschaft geprüft:

No.	Kasein	Trypsin	Staphylokokkenlipoide, verseift	Colilipoide, verseift	N verdaut	Proz.
1	2 ccm	0	0	0	0	0
2	2 „	0,1 ccm	0	0	1,66 mg	100
3	2 „	0,1 „	2 ccm	0	0,217 „	13
4	2 „	0,1 „	0	2 ccm	0,715 „	43

In einer einfachen Suspension wurde nur geringe Hemmung erzielt.

In einer früheren Arbeit zeigten wir schon, daß verschiedene Bakterienarten durch Adsorption die Serumlipoide an sich binden können.

Getrocknet findet man die so behandelten Organismen dem Trypsin gegenüber mehr resistent als unbehandelte.

Die Beziehung der Proteolyse zu der Bakteriolyse.

Beziehen wir nun die relative Resistenz der getrockneten Bakterien den proteolytischen Fermenten gegenüber auf deren Gehalt an ungesättigten Lipoiden und die gleichmäßige und vollkommene Widerstandskraft der intakten Organismen auf die potentielle lipoide Umhüllung derselben, so daß den proteolytischen Fermenten kein Angriffspunkt geboten wird, dann tritt die Frage nach der Natur der Bakteriolyse sofort in den Vordergrund.

Die Auflösung der Bakterienkörper wird in der Literatur fast durchweg als ein proteolytischer Vorgang betrachtet. Jobling und Strouse (11) legten aber besonderen Nachdruck auf den Unterschied zwischen einfacher Lösung und Proteolyse der Bakterien, indem sie zeigten, daß der Lösungsgrad von verschiedenen Organismen nicht der Proteolyse parallel ging. Sind die lytischen Körper nicht proteolytisch, so können dieselben wohl unter den Lipasen vermutet werden. Daß es bei der Bakteriolyse nicht zu einer tiefgreifenden Proteolyse kommt, ist schon mehrmals dargestellt, indem man

mit der Sörensen-Methode keine Zunahme des Aminonstickstoffes erhielt. Seitdem die mikrochemischen Methoden von Bang und von Folin zur Verfügung stehen, sind keine Experimente, welche sich mit diesem Phänomen beschäftigen, erschienen. Unsere Experimente wurden mit Coli-, Typhusbacillen und Staphylokokken, mit Coli- und Typhusimmunserum und frischem Meerschweinchenserum als Komplement unternommen.

Die Einzelheiten der recht umfänglichen Protokolle sind schon veröffentlicht (12); kurz zusammengefaßt, gestaltete sich ein solches Experiment etwa, wie folgt. An einer frischen Bakterienemulsion wurde der gesamte und der nichtausfällbare Stickstoff bestimmt. Desgleichen wurde der nichtausfällbare Stickstoff der verschiedenen zur Verwendung kommenden Sera bestimmt. Serum und Bakterienemulsion wurden nun in Zentrifugenröhrchen zur Bakteriolyse in den Brutschrank gestellt; nach vollendeter Verdauung wurde so lange zentrifugiert, bis die obere Flüssigkeit vollständig klar war. Es wurde einmal mit Salzlösung gewaschen. Die Stickstoffmenge des gesamten Bakterienrestes sowie die Zunahme des nichtausfällbaren Stickstoffes in dem Serum usw. wurden nun bestimmt. So ergab sich z. B. das folgende Resultat im Experimente mit Colibacillen und Coli-Immunserum:

No.	Typhusbacillen	Colibacillen	Coli-Immunserum	Komplement	Bakterien-N nach der Bakteriolyse	Verlust an Bakterienstickstoff	Gesamte nichtausfällbare Stickstoffe im Serum nach der Bakteriolyse	Zunahme an nichtausfällbarem Stickstoff im Serum nach der Bakteriolyse
1	1 ccm	0	Gesamtstickstoff = 1,65 mg. Davon 0,25 mg nichtausfällbar					
2	0	1 ccm	„ = 2,80 „ „ 0,38 „ „					
3	1 ccm	0	0	0	1,4 mg	0,25 mg	0,2 mg	zur Autolyse in Salzlösung gestellt
4	0	1 ccm	0	0	2,46 „	0,34 „	0,3 „	
5	1 ccm	0	0	0	1,51 „	0,14 „	0,2 mg Gesamt-N. in der Salzlösung	
6	0	1 ccm	0	0	2,34 „	0,46 „	0,53 „	
7	1 ccm	0	1,0 ccm	2,0 ccm	1,25 „	0,4 „	0,87 (— 0,625) mg	= 0,24 mg — Typhusbacillen, Coli-Immunserum und Komplement
8	1 „	0	0,1 „	2,0 „	1,25 „	0,4 „	0,66 (— 0,437) „	= 0,22 „
9	0	1 ccm	1,0 „	2,0 „	2,10 „	0,7 „	1,0 (— 0,625) „	= 0,375 „ — Colibacillen. Coli-Immunserum und Komplement
10	0	1 „	0,1 „	2,0 „	2,1 „	0,7 „	0,8 (— 0,437) „	= 0,363 „
11	0	0	1 „	.	.	.	0,207 mg	
12	0	0	.	2,0 „	.	.	0,417 „	

Wie zu ersehen, war der Verlust an Bakterienstickstoff ganz bedeutend (also eine Lösung von Bakterienkörpern), doch ohne wahrnehmbare Zunahme des nichtausfällbaren Stickstoffes. Es ist demnach weder mit der Methode Sörensens noch mit der mikrochemischen Methode Folins eine Proteolyse zu konstatieren, und die Vermutung eines lipolytischen Vorganges wird dadurch bedeutend bestärkt.

Serumprotease.

Nachdem wir gefunden, daß das antitrypsinfreie Meerschweinchenserum und Kaninchenserum sich selbst verdaute und giftig wurde (Serotoxin und Anaphylatoxin), untersuchten wir Serumproteasen verschiedener Tiere nach folgender Methode. Das frische Serum wurde mit dem doppelten Quantum Chloroform kräftig geschüttelt und in den Brutschrank gestellt. Nachdem das Antiferment vollständig in Chloroform übergegangen (2—4 Stunden), wurde zentrifugiert und so lange durch Papier filtriert, bis das Chloroform verdunstet war. Das Serum wurde nun mit Alkohol gefällt und schnell mit Aether getrocknet. Das erhaltene Pulver wurde je nach Bedürfnis in Salzlösung gelöst (in der Regel als 1-proz. Lösung). So zubereitet, dienten die Serum-Eiweißkörper zugleich als Substrat für das Ferment. Gelegentlich trennten wir das Ferment von dem Serumeiweiß soweit als möglich durch wiederholte Auflösung und Alkoholfällung, wodurch der größere Teil der beigemengten Eiweißkörper entfernt wurde und die Wirkung der freien Protease auf andersartige Substrate beobachtet werden konnte.

Hedin (13) beobachtete, daß die Globulinfraktion des Serums ein schwaches proteolytisches Ferment enthält, welches dadurch zum Vorschein gebracht wurde, daß das Antiferment mit der Albuminfraktion zusammen blieb (Landsteiner). Opie und Barber (14) beobachteten Proteasen im Serum, indem sie das Antiferment durch Ansäuern beseitigten. Delezenne und Pozerski (15) zeigten zuerst, daß das mit Chloroform behandelte Serum proteolytisch wirkte, hatten aber keine Erklärung dafür.

Nehmen wir Hundeserum, nach der geschilderten Methode zubereitet, so findet man, daß die Proteasenwirkung lange nicht so stark ist wie im Meerschweinchenserum, in manchen Serumarten vermißt man sogar die proteolytische Wirkung vollständig.

Die Verdauung von 5 ccm 1-proz. Lösung eines Hundeserums ergab folgende Zahlen:

1)	Nichtausfällbarer Stickstoff in der Originallösung	0,12 mg
2)	„ „ nach 24 Std. im Brutschrank	0,3 „
3)	„ „ „ 48 „ „ „	0,4 „
4)	„ „ „ 72 „ „ „	0,625 „

Nach der Einspritzung von artfremdem Eiweiß steigt die proteolytische Wirkung, doch in nichtspezifischer Art. Es wurden einem Hunde am 15. VI. 1914 0,5 g Eiweiß eingespritzt und das Serum a vor der Injektion, b 4 Stunden und c 24 Stunden nach der Injektion untersucht. Die Selbstverdauung in 1-proz. Lösung erfolgte wie aus dem Protokoll zu ersehen.

1-proz. Serumlösung			Nichtausfällbarer N vor der Verdauung	Nach 20 Stunden	Zunahme
a	b	c			
5 ccm			0,184 mg	0,425 mg	0,24 mg
	5 ccm		0,15 „	0,48 „	0,33 „
		5 ccm	0,12 „	0,35 „	0,23 „

Nach 5 Tagen wurde eine zweite Einspritzung von Eiweiß vorgenommen und das Serum nach 4 und 24 Stunden geprüft:

1-proz. Serumlösung			Nichtausfällbarer N vor der Verdauung	Nach 20 Stunden	Zunahme
	b	c			
	5 ccm		0,12 mg	0,625 mg	0,50 mg
		5 ccm	0,12 mg	0,48 „	0,36 „

Nach 4 Stunden war eine erhöhte Proteolyse zu beobachten, besonders ausgeprägt nach der zweiten Injektion. Dieses Ferment war jedoch nicht spezifisch, indem das Serum in vitro absolut keine Wirkung auf das spezifische eingespritzte Eiweiß auszuüben imstande war.

Das Meerschweinchenferment ist bedeutend stärker als das des Hundeserums; die Beeinflussung durch verschiedene Temperaturen ist im folgenden Experimente dargestellt:

No.	Serumlösung 1-proz.	Stickstoff verdaut	Proz.
1	2 ccm Gesamtstickstoff 1,54 mg		100
2	2 „ „ (nichtausfällbar) 0		
3	2 „	0,22 mg	14
4	2 „ (56° C 15 Minuten)	0,15 „	10
5	2 „ (70° C 15 „)	0	0
6	2 „ (80° C 15 „)	0	0

Das 15 Minuten lange Erhitzen auf 56° C übt schon einen beträchtlichen Einfluß auf die Proteasewirkung aus, und wird die Zeitdauer bis 30 Minuten verlängert, so findet man nur noch geringe Wirkung des Ferments. Wir fanden das Ferment wirksam in neutraler, schwach alkalischer sowie saurer Lösung, so daß das Ferment der Leukoprotease ähnelt (Jobling und Strouse, 16). Es unterscheidet sich also von dem Erepsin, welches in saurer Lösung inaktiv (Kobzarenko, 17) und auch wohl weniger hitzebeständig ist.

Daß das Ferment nicht nur gegen das eigene Eiweiß, sondern auch andere artfremde Eiweißstoffe zu verdauen vermag, zeigen die folgenden Ergebnisse: Das Meerschweinchenserum wurde (nach der Chloroformbehandlung) etliche Male gelöst und gefällt, bis die größte Menge der Eiweißkörper beseitigt war. Von dem erhaltenen Rückstand wurden 40 mg in 10 ccm Salzlösung gelöst und die Wirkung gegen 1 Proz. Kasein in saurer und alkalischer Lösung geprüft. Die Verdauungszeit betrug 20 Stunden.

No.	Serumferment	Kasein, alkalisch	Kasein, sauer	N verdaut	Proz. der Verdauung
1	2,0 ccm	0	0	0	0
2	0	2 ccm	0	0	0
3	0	2 „ Gesamt-N 1,5 mg			100
4	2,0 ccm		2 ccm	0,45 mg	30
5	1,0 „		2 „	0,22 „	14
6	0,5 „		2 „	0,16 „	10
7	2,0 „	2 ccm		0,12 „	8
8	1,0 „	2 „		0,15 „	10
9	0,5 „	2 „		0,1 „	7

In diesem Experimente war die Verdauung in der sauren Lösung stärker.

In ganz analoger Weise verdaute auch die Hundeprotease Kasein, war aber gegen natürliches Eiweiß trotz Vorbehandlung vollkommen wirkungslos.

In ähnlicher Weise wurde das Serum eines Coli-Immunkaninchens mit Chloroform behandelt (wobei die spezifischen Präzipitine nicht zerstört werden) und die Protease eingeengt, so daß von etwa 15 ccm Serum ein trockenes Pulver von 100 mg zurückblieb. Diese Protease erwies sich aber gegenüber Coli- und Typhuseiweiß sowie Kasein als ganz unspezifisch.

Die getrocknete Serumprotease erhält sich längere Zeit — 6 Monate — ohne Verlust an fermentativer Kraft. Im normalen Menschenserum gelang es uns nie, auf diese Weise irgendeine proteolytische Wirkung zu erzielen (wir unterscheiden selbstverständlich hier strengstens zwischen proteolytischen und peptolytischen oder ereptischen Fermenten), im Hundeserum gelang es nur in Einzelfällen und nur regelmäßig bei irgendeiner pathologischen Veränderung (Inanition etc.) oder nach der Einspritzung verschiedener Eiweißkörper. Dagegen fehlt die Proteasewirkung im Meerschweinchen- und Kaninchenserum nie; es ist recht interessant, daß in den letztgenannten Tieren die Leukocyten eines proteolytischen Ferments entbehren, dagegen in Hund und Mensch, in denen die Leukocyten reich an proteolytischen Fermenten sind, die Serumprotease unter normalen Verhältnissen entweder abwesend oder verhältnismäßig schwach ist.

In Anbetracht der fortwährenden Verwechslung des Komplements und der Serumprotease und der Bezeichnung des Komplements als ein proteolytisches Ferment sollte die Nichtidentität dieser zwei Serumkomponenten besonders hervorgehoben werden. Experimentell läßt sich das leicht durch Chloroformeinwirkung auf Meerschweinchenserum zeigen. Es wird dadurch das Komplement zerstört, während die proteolytische Wirkung durch die Antifermentbeseitigung erst ermöglicht wird. Mit der Komplementwirkung geht auch die Serumesterase zugrunde. Betrachtet man die Gifterzeugung bei der Anaphylatoxinbildung und der Anaphylaxie als eine proteolytische Erscheinung, so sollte man die Mitwirkung des

Komplements vom Standpunkte eines proteolytischen Ferments aufgeben. Die Komplementwirkung ist viel wahrscheinlicher mit den Lipasen verwandt (Jobling und Bull, 18).

Ueber den Mechanismus der Abderhalden-Reaktion.

Bei der Beobachtung der nichtspezifischen Natur der Serumproteasen, welche nach der geschilderten Methode zur Erscheinung kommt, und der Zunahme der Fermentwirkung nach einer Eiweißinjektion machten wir etliche Experimente (mit Eggstein, 19) zur Klarlegung des Mechanismus der Abderhalden-Reaktion.

Allerdings wird die Spezifizität der Serumfermente durch eine ganze Anzahl Arbeiten der letzten 2 Jahre recht in Frage gestellt. Wir selbst erhielten, trotz der größten Sorgfalt und Innehaltung der Vorschriften Abderhaldens, fortgesetzt positive Reaktionen bei fast allen unseren pathologischen Seren (zur Untersuchung kamen gravide, tuberkulöse und Pneumonie-Seren); auch etliche Male bei normalen männlichen Seris und selbstverständlich auch immer bei Meerschweinchenserum, welches ja reich an Protease ist.

In Anbetracht unserer Arbeit über die Anaphylatoxinbildung schien es uns eher möglich, daß es statt eines fermentativen Abbaues der Placenta zur Adsorption von Lipoidschutzkörpern käme, mit darauf folgender Spaltung der Serumeiweißkörper. In dieser Ansicht wurden wir durch die Arbeit Plauts (20) bestärkt.

Nehmen wir an, daß in pathologischen Fällen, darunter Gravidität, eine Zunahme der sonst nur in geringer Menge vorhandenen Proteasen in ganz unspezifischer Weise vorkommt. In der Mehrzahl dieser Fälle — Gravidität, Lungenentzündung, Carcinom, Tuberkulose etc. — findet man zugleich eine Zunahme des Antitrypsins, eines ebenso unspezifischen Körpers. Diese Zunahme hat ihren Ursprung wohl nicht nur in einem Gewebszerfall mit darauf folgender Mobilmachung von Lipoiden, sondern auch in der Herabsetzung des Fettspaltungsvermögens, welche diese pathologischen Zustände begleitet.

Durch Zufügung eines adsorbierenden Körpers, sei es Placenta, Stärke, Kaolin, wird das Antiferment adsorbiert und an der Oberfläche des adsorbierenden Agens muß nun eine begrenzte Zone der Antifermentverminderung existieren, in welcher dem proteolytischen Fermente ein freier Wirkungskreis geboten wird. Dabei braucht aber die Gesamtantifermentmenge nicht erst beseitigt zu werden, solange geeignete Oberflächen zur Adsorption vorhanden sind. Die Beeinflussung der Proteolyse (bei der Anaphylatoxinbildung) durch den verschiedenen Dispersitätsgrad des adsorbierenden Agens hat Nathan (21) vor kurzem gezeigt.

Unter solchen Umständen sollten wir erwarten, a) daß die Placenta nach der Serumbehandlung, infolge der Adsorption von Antitrypsin, den proteolytischen Fermenten gegenüber mehr resistent sein würde; b) daß der Antifermenttiter des Serums vermindert wäre. Daß dies tatsächlich zutrifft, haben wir vor kurzem gezeigt (19).

Bronfenbrenner (22) zeigte, von unseren Studien über das Antiferment ausgehend, neuerdings, daß man auch durch Chloroformextraktion eine positive Reaktion erhält, dagegen nach der Hinzufügung von ungesättigten Lipoidkörpern eine positive Reaktion gehemmt wird. Daß man durch die Hinzufügung von verschiedenen Kolloiden — Agar, Stärke und Chloroform — nicht immer eine positive Reaktion erzielt, ist wohl dadurch zu erklären, daß diese Körper an und für sich die Dialyse der Spaltprodukte durch die Hülsenwand bedeutend hemmen, ein Faktor, der bei der Placenta nicht vorkommt.

Man muß wohl aber die Hülsenwand auch als adsorbierende Fläche betrachten; so werden ja die Versuche Rosenthals erklärt, der behauptete, daß das Antiferment dialysierbar wäre. Deswegen kommt es nicht selten vor, daß das aktive Serum, ohne Placenta oder sonstiges Adsorbens, eine positive Reaktion zeigt, dagegen inaktives Serum sowie inaktives Serum mit Placenta negativ reagieren, somit die Verantwortlichkeit etwa schon vorhandener Spaltprodukte im Serum definitiv ausgeschlossen ist. Da man in vitro keine Zunahme der Spaltprodukte wahrnimmt, muß man deren Entstehung als

durch die adsorbierende Fläche der Hülsen bedingt annehmen. Gewiß ist es möglich, daß auch andere Veränderungen der Dispersität der Serumkolloide, wie wir sie bei der Präzipitinreaktion kennen, geeignete Zustände für weitere Adsorption liefern können und es zu einer Proteolyse kommt (De Waele, 23).

Die Nichtbeteiligung des Komplements wird schon durch die häufigen positiven Reaktionen gezeigt, die man mit inaktivem Serum erhält (Lange, 24). Bei einer Temperatur von 56—60° C (30 Minuten) wird die Protease bedeutend abgeschwächt, aber nicht ganz vernichtet, und unterscheidet sich somit von dem Komplement. Es ist dieses wohl dieselbe Erscheinung, die man bei der Anaphylatoxinbildung gelegentlich findet, wo mit inaktivem Serum, freilich recht unbeständig, giftige Präparate gewonnen werden.

Die Tatsache, daß die Abderhalden-Reaktion durch Säuren inaktiviert wird und durch Alkalien eher verstärkt (Eggstein, 25; Goormaghtigh and Deheegher, 26), würde die wichtige Rolle der Ereptase des Serums andeuten, da gerade dieses Ferment in saurer Reaktion inaktiv ist (Kobzarenko, 17), während die Protease bei saurer, sowie alkalischer Reaktion funktionieren kann. Es ist wenigstens sehr wahrscheinlich, daß mehrere unspezifische Fermente an der Reaktion beteiligt sind, ob neben denselben auch spezifische Elemente mitwirken, sei es als spezifische Fermente oder als spezifische Adsorptionsprozesse, ist unserer Ansicht nach noch nicht einwandfrei bewiesen.

Die therapeutische Jodwirkung.

Wir haben vor einiger Zeit gezeigt, daß, wenn Serum in vitro, längere Zeit mit Jod oder Jodsalzen, wie Jodnatrium oder Jodkalium, behandelt wird, es zu einer Herabsetzung des Antitrypsintiters kommt. Wir erklärten dies durch die Absättigung der ungesättigten Atome der Fettsäuren; es mag aber auf einer Aenderung des Dispersitätsgrades der Lipoide beruhen. Es schien uns wenigstens möglich, daß die therapeutische Jodwirkung dadurch eine Erklärung finden würde,

besonders da man über die Wirkung noch recht im Dunkeln ist. Durch eine Herabsetzung des Antiferments würde natürlich den proteolytischen Fermenten des Körpers größere Aktivität verliehen, die ihren Ausdruck in der Einschmelzung von nekrotischen Geweben finden würde.

Professor Fordyce stellte uns freundlichst 13 Patienten der Abteilung für Hautkrankheiten der Vanderbilt-Klinik zur Verfügung. Der Antifermenttiter wurde vor sowie zu verschiedenen Zeiten während der Jodkur genau bestimmt. Es wurden steigende Dosen Jodkaliums bis zu 150 mm täglich gegeben.

10 dieser Patienten zeigten während dieser Jodbehandlung eine deutliche und progressive Verminderung des Antiferments; die übrigen 3, von denen 2 das Jod sehr unregelmäßig nahmen, zeigten wenig oder keine Veränderung. Gewiß sehen wir ernstlich davon ab, an der Hand so weniger Fälle das Ergebnis irgendwie als endgültig festgestellt zu betrachten, doch da die überwiegende Mehrzahl der Patienten in dieser Serie ein so eindeutiges Resultat zeigten, ist wohl die schon erwähnte Erklärung möglich, besonders da eine vollkommene Uebereinstimmung mit den Experimenten in vitro besteht. Die Verminderung der fermenthemmenden Eigenschaft findet weniger Ausdruck in den Verdünnungen, wo ein Ueberschuß von Serum vorhanden ist, als in jenen, wo es gerade zu einer Antifermenteinheit oder weniger kommt.

Es war interessant, zu beobachten, daß bei solchen Patienten, bei denen Symptome von Jodintoxikation vorkamen, es gleichzeitig zu einer Steigerung des Antiferments kam; diese Zunahme ist ähnlich derjenigen, welche man bei anderen Intoxikationen findet — Anaphylaxie, Phosphor etc. — und die Erhöhung würde natürlich hier gerade dem therapeutischen Ziel, für welches das Jod verabreicht wird, entgegenwirken.

Bei Tieren, bei welchen der Antifermenttiter ursprünglich schon niedriger ist, läßt sich diese Jodwirkung nicht so leicht nachweisen, wie auch die Antifermentsteigerung, welche nach der subkutanen Einspritzung von Eifett usw. erfolgt, manchmal durch die gleichzeitige Steigerung des Fettspaltungsvermögens des Serums verdeckt wird.

Zusammenfassung.

1) Es wird gezeigt, daß durch die Beseitigung des Antiferments des Antigens demselben eine größere Giftigkeit verliehen wird, und daß eine Erhöhung des Antifermenttiters in sensibilisierten Tieren mit einer gesteigerten Widerstandskraft gegen den anaphylaktischen Shock verbunden ist.

2) Bakterienantifermente bestehen aus deren ungesättigten Lipoiden. Die vollkommene Resistenz intakter Organismen beruht wahrscheinlich auf einer potentiellen Lipoidumhüllung.

3) Durch mikrochemische Analyse (Folin) ist während der Bakteriolyse keine Zunahme des nichtausfällbaren Stoffes nachzuweisen.

4) Komplement und Serumprotease sind nicht identisch.

5) Protease kann im Meerschweinchen- und Kaninchenserum beständig nachgewiesen werden. Sie ist in schwach saurer, sowie alkalischer Lösung aktiv; die Wirkung wird bei 56° C stark beeinträchtigt und bei 70° C vollkommen vernichtet; sie wird von den ungesättigten Seifen gehemmt; die Protease ist nicht spezifisch. Im Hundeserum läßt sich die Protease nicht immer nachweisen; nur in pathologischen Fällen ist sie beständig vorhanden. Sie wird durch Eiweißbehandlung in einer nichtspezifischen Weise vermehrt. Im normalen Menschenserum läßt sich keine oder nur minimale Wirkung mit der Chloroformmethode nachweisen.

6) Die Abderhalden-Reaktion wird durch eine Adsorption des Serumantiferments begleitet; das spezifische Gewebe wird nicht abgebaut, sondern die Spaltprodukte haben ihren Ursprung in den Serumeiweißkörpern. Das Komplement ist nicht an der Reaktion beteiligt.

7) Bei der Behandlung von Patienten mit Jodkalium läßt sich eine progressive Verminderung des antitryptischen Titers konstatieren. Dadurch wird den proteolytischen Fermenten des Körpers größere Aktivität verliehen. Es ist möglich, daß die therapeutische Jodwirkung auf dieser Verminderung des Antifermentgehaltes beruht.

Literatur.

1) Jobling, J. W., und Petersen, W. F., diese Zeitschr., Bd. 23, 1914, p. 71.
2) v. Behring, E., Deutsche med. Wochenschr., Jahrg. 40, 1914, No. 41.
3) Jobling and Petersen, Journ. exp. Med., Vol. 19, 1914, p. 480.
4) — — Journ. exp. Med., Vol. 20, 1914, p. 468.
5) Stuber, B., und Heim, R., Münch. med. Wochenschr., Jahrg. 61, 1914, No. 30.
6) Jobling and Petersen, diese Zeitschr., Bd. 24, p. 219.
7) Rusznyak, S., Deutsche med. Wochenschr., Jahrg. 38, 1912, p. 168.
8) Jobling and Petersen, Journ. exp. Med., Vol. 20, 1914, p. 452.
9) Loeb, J., und Beutner, R., Biochem. Zeitschr., Bd. 59, 1914, p. 195.
10) Müller, P. T., diese Zeitschr., Bd. 1, 1908—09, p. 61.
11) Jobling and Strouse, S., Journ. exp. Med., Vol. 18, 1912, p. 597.
12) — and Petersen, Journ. exp. Med., Vol. 20, 1914, p. 321.
13) Hedin, S., Journ. of Physiol., Vol. 30, 1904, p. 195.
14) Opie, E. L., and Barber, Journ. exp. Med., Vol. 7, 1905, p. 316.
15) Delezenne, C., and Pozerski. E., Compt. rend. de Soc. de Biol., Vol. 55, 1903, p. 1553.
16) Jobling and Strouse, Journ. exp. Med., Vol. 16, 1912, p. 269.
17) Kobzarenko, S., Biochem. Zeitschr., Bd. 66, 1914, p. 344.
18) Jobling and Bull, C., Journ. exp. Med., Vol. 17, 1913, p. 61.
19) — Eggstein, A. A., and Petersen, Journ. exp. Med., Vol. 21, 1915.
20) Plaut, F., Münch. med. Wochenschr., Jahrg. 61, 1914, p. 238.
21) Nathan, E., diese Zeitschr., Bd. 23, 1914, p. 204.
22) Bronfenbrenner, J., Proc. Soc. for exp. Biol. and Med., Vol. 12, 1914, p. 3.
23) De Waele, H., diese Zeitschr., Bd. 22, 1914, p. 70.
24) Lange, C., Biochem. Zeitschr., Bd. 61, 1914, p. 193.
25) Eggstein, A. A., Journ. Tenn. State Med. Soc., Vol. 7, 1914, p. 115.
26) Goormaghtigh, N., et Deheegher, Le Progrès med., 1914, No. 20.
27) Jobling and Petersen, Archives of int. Med., Vol. 15, 1915, p. 286.

[Aus dem Hygienisch-parasitologischen Institut der Universität Lausanne.]

Präzipitine und Trichotoxine für Albumine und Flimmerepithel von Anodonta anatina L.

Von **B. Galli-Valerio.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. März 1915.)

Im Jahre 1899 hatte Landsteiner[1]) die Spermotoxine für Stiersperma entdeckt. Diese Entdeckung wurde im Jahre 1900 von Metschnikoff[2]) für Kaninchensperma, von Moxter[3]) für Hammelsperma und von Métalnikoff[4]) für Meerschweinchensperma bestätigt.

Aber schon im Jahre 1899 hatte v. Dungern[5]) eine noch interessantere Beobachtung gemacht: Er hatte Trachealepithel vom Rinde in die Bauchhöhle von Meerschweinchen eingebracht. Wenn die Meerschweinchen normale waren, so hielten sich die injizierten Flimmerepithelien mehrere Tage lang in ihrer Bauchhöhle am Leben. Waren aber die Meerschweinchen bereits längere Zeit mit Epithelinjektionen vorbehandelt worden, oder wurden normalen Meerschweinchen zugleich mit Trachealepithel entsprechende Mengen des Immunserums beigebracht,. so stellten die Zellen bald ihre Bewegungen ein und gingen nach bedeutend kürzerer Zeit zugrunde. Metschnikoff[6]) hat diesen Cytotoxinen den Namen „Trichotoxine" gegeben.

Als ich Gelegenheit hatte, einige Exemplare von Anodonta anatina L. im Genfer See zu finden, Mollusken, die sehr schöne Flimmerepithelien auf den Kiemen tragen, wollte ich versuchen, ein trichotoxisches Serum für diese Epithelien zu gewinnen. Die Untersuchung war interessant, weil die Kiemenepithelien von A. anatina sehr entwickelte und sehr bewegliche Flimmern tragen, und es daher leicht wäre, die

1) Centralbl. f. Bakt., Abt. I, Bd. 25, 1899, p. 546.
2) Ann. de l'Inst. Pasteur, 1900, p. 1.
3) Deutsche med. Wochenschr., 1900, No. 4.
4) Ann. de l'Inst. Pasteur, 1900, p. 577.
5) Münch. med. Wochenschr., 1899, No. 38.
6) Ann. de l'Inst. Pasteur, 1900, p. 369.

trichotoxische Wirkung des Serums unter dem Mikroskop zu demonstrieren.

Bringt man kleine Stücken von Kiemenflimmerepithel in einen Tropfen von Wasser oder von physiologischer Kochsalzlösung, so kann man die Beweglichkeit der Flimmern bis nach 22 Stunden bemerken, wenn die Präparate in die feuchte Kammer gelegt sind. Bei Anodonten, die in Wasser gelegt sind, kann man jeden Tag während 2—3 Tagen (Zimmertemperatur 19° C) bewegliche Flimmerepithelien abschaben.

Die Flimmerepithelien von A. anatina sind sehr leicht zu finden: sie erscheinen wie eine braune Säge am Rande des Tieres hingelegt.

Abgeschabte Epithelien und zerkleinerte Stücke des Körpers von A. anatina wurden in physiologischer Kochsalzlösung zerrieben und unter die Schenkelhaut eines Kaninchens von 3600 g eingespritzt. In 11 Tagen hat dieses Kaninchen 5 Einspritzungen von je 10 ccm bekommen. Als das Tier unglücklicherweise ein Geschwür zeigte, habe ich es 5 Tage nach der letzten Einspritzung getötet.

Mit dem Serum dieses Kaninchens habe ich folgende Untersuchungen gemacht:

a) Präzipitinuntersuchungen.

1 g von fein zerschnittenem Fuß von A. anatina wurde in 29 ccm physiologischer Kochsalzlösung zerrieben, 24 Stunden bei 0° bis + 1° C gelassen und dann abfiltriert. Eine ähnliche Lösung habe ich auch mit dem Fuß von Limnaea stagnalis präpariert. Die zwei Lösungen, die sehr klar waren, habe ich auf 1 : 100, 1 : 1000 und 1 : 10 000 verdünnt.

Die Untersuchungen habe ich mit zwei Methoden gemacht: derjenigen von Carnwath nur mit 1 : 10- und 1 : 100-Lösungen und derjenigen von Galli-Valerio-Bornand ($^{2}/_{10}$ der verschiedenen Lösungen + $^{1}/_{10}$ des Antiserums).

Mit der ersten Methode habe ich in den Lösungen von A. anatina und von L. stagnalis einen deutlichen Ring und späteren flockigen Niederschlag bemerkt. Die Reaktion war stärker in der Lösung von A. anatina. Die Kontrollen sind ganz klar geblieben.

Mit der zweiten Methode haben die Lösungen 1 : 10 von A. anatina und L. stagnalis eine sehr starke Trübung mit Bodensatz gegeben; 1 : 100 Trübung und Bodensatz nicht so stark wie in der 1 : 10-Lösung; 1 : 1000 leichte Trübung ohne Bodensatz; 1 : 10000 nur eine ganz leichte Trübung. Trübung und Bodensatz waren immer stärker in der Lösung von A. anatina als in derjenigen von L. stagnalis. Die Kontrollen sind ganz klar geblieben.

Es ist also möglich, ein präzipitierendes Serum für die Albumine von A. anatina zu gewinnen, aber es ist nicht streng spezifisch: Albuminlösungen von L. stagnalis werden auch präzipitiert. Nur quantitativ sind die Präzipitate verschieden.

b) Trichotoxinuntersuchungen.

Kleine Stücke Flimmerepithel, von lebenden A. anatina genommen, wurden in je einen Tropfen von Wasser, von physiologischer Kochsalzlösung, von Normalserum von Kaninchen und von trichotoxischem Serum gelegt. Die Zimmertemperatur betrug 19° C.

Die Stücke in Wasser, physiologischer Kochsalzlösung und normalem Kaninchenserum zeigten Bewegungen bis nach 22 Stunden. In Normalserum waren die Bewegungen nicht so schnell wie in Wasser und physiologischer Kochsalzlösung wegen der größeren Densität der Flüssigkeit.

In trichotoxischem Serum bemerkte man eine rasche Verminderung der Bewegung, und nach 5 Minuten stellten die Flimmern ihre Bewegungen ein. Nur einige Gruppen von Flimmern, die etwas gegen das Serum geschützt waren, zeigten noch 3—5 Minuten lang Bewegungen.

Aber nach 2 Tagen bei 0° bis + 1° C hatte das trichotoxische Serum seine Wirkung eingebüßt. Die Reaktivierung habe ich mit frischem Meerschweinchenserum probiert.

Die Untersuchungen ergaben, daß die Kontrollen in Wasser, physiologischer Kochsalzlösung, 2-tägigem Kaninchennormalserum + frischem Meerschweinchenserum und in frischem Meerschweinchenserum bis zu 22 Stunden Bewegungen zeigten, daß dagegen die Stücke in trichotoxischem Serum + frischem Meerschweinchenserum Stillstand der Bewegungen aufwiesen. Aber

die Resultate waren ganz verschieden je nach der Quantität von Meerschweinchenserum, das dem trichotoxischen Serum zugesetzt worden war. Schon Métalnikoff[1]) hatte bemerkt, daß für die Spermotoxine die beste Wirkung auf Samenfäden entfaltet wird, wenn die Quantität von Komplement 10—15—20-mal so groß ist wie die Quantität von Ambozeptor. Meine Untersuchungen stimmen mit denjenigen von Métalnikoff überein:

Trichotoxisches Serum	Meerschweinchen-serum	Verzögerung der Bewegung	Stillstand der Bewegung
1	1	1/2 Minute	1 1/2 Stunde
1	5	1/2 „	45 Minuten
1	10	1/2 „	35 „
1	20	1/2 „	10 „
1	30	3 Minuten	40 „

Das Optimum scheint also die Mischung von einem Teile Ambozeptor und 20 Teilen Komplement zu sein. Sehr wahrscheinlich würden bei verschiedenen Sera auch die Proportionen verschieden sein.

Diese Untersuchungen zeigen, daß es möglich ist, ein trichotoxisches Serum für Flimmerepithel von A. anatina zu gewinnen, das für Demonstrationszwecke sehr zu empfehlen ist.

Zusammenfassung.

Behandlung von Kaninchen mit Kiemenflimmerepithel und Körperbestandteilen von A. anatina führt zur Gewinnung eines präzipitierenden und eines trichotoxischen Serums.

1) l. c. p. 579.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4527

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XXIV. No. 4.

[Aus der Königl. Universitätsklinik für Hautkranke zu Breslau (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. Neisser).]

Ueber lokale („primäre“) Krankheitserscheinungen an der Stelle der Infektion bei der Ngana-Erkrankung des Kaninchens („Trypanosomenschanker“). Ihre Bedeutung für die Beurteilung des Verlaufes der Kaninchentrypanosomiasis. Uebergang des „primären“ in das „sekundäre“ Krankheitsstadium (Rezidivstammbildung).

Von Dr. **A. Stühmer,**
Assistenzarzt.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. Juli 1914.)

Bei den chemotherapeutischen Bestrebungen in der modernen Syphilisbekämpfung hat die Ngana-Erkrankung der Laboratoriumstiere eine erhöhte Bedeutung gewonnen. Sie hat bei den vorbereitenden Untersuchungen im Ehrlichschen Institut sowohl wie an allen übrigen Orten das leider noch nicht mit der wünschenswerten Leichtigkeit zu beschaffende Material an allgemeininfizierten Syphilistieren ersetzen müssen. Und man hat sich gewöhnt, die Resultate, welche man an trypanosomeninfizierten Tieren gewonnen hatte, allerdings mit Vorsicht auf die Syphilis der Tiere und des Menschen zu übertragen. Zu einem solchen Vorgehen berechtigten einmal die weitgehenden Analogien, welche die beiden Erkrankungen in biologischem Sinne zeigen und dann auch die Uebereinstimmung der chemotherapeutischen Ergebnisse, wie man sie bei der Ngana-Infektion der Mäuse und Ratten und bei der primären Syphilis des Kaninchens feststellen konnte.

Bei dem ganzen Ausbau der Salvarsantherapie hat sich jedoch bald gezeigt, daß sich ein chronisch allgemeininfizierter Organismus, wie wir ihn in jedem sekundär- und tertiärsyphilitischen Menschen vor uns haben, doch wesentlich anders verhält als jene Laboratoriumsinfektionen. Wir wissen jetzt, daß wir wohl bei der primären Syphilis des Menschen das

von Ehrlich erstrebte Ideal der Therapia sterilisans nahezu erreichen können, daß aber der syphilitisch durchseuchte Körper den chemotherapeutischen Mitteln einen Widerstand entgegensetzt, wie wir ihn weder bei der schnell zum Tode verlaufenden Ngana-Erkrankung der Mäuse und Ratten noch bei den primär infizierten Syphiliskaninchen voraussetzen können.

Es ergibt sich daher für weitere experimentelle Studien die Forderung, ein Testmaterial zu verwenden, das der chronischen Syphiliserkrankung mehr analog ist, als die bisher hauptsächlich herangezogenen Objekte. Seit längerer Zeit bin ich nun damit beschäftigt, an der chronisch verlaufenden Ngana-Erkrankung des Kaninchens therapeutische Studien mit Salvarsan zu machen. Es ist hier nicht der Ort, auf die Ergebnisse bereits einzugehen, aber ich möchte doch hervorheben, daß mir die bisher gewonnenen Resultate sehr interessant zu sein scheinen. Um aus ihnen aber bindende Schlüsse auf die Syphiliserkrankung des Menschen ziehen zu können, verdienen zunächst alle diejenigen Beobachtungen unser allergrößtes Interesse, welche geeignet sind, uns Auskunft zu geben über die Frage, wieweit wir eine biologische Aehnlichkeit zwischen der Trypanosomiasis und der Syphilis annehmen können. Wenn wir z. B. sehen, wie in der menschlichen Syphilispathologie die Frage nach dem Stadium der Erkrankung für die Wirksamkeit einer eingeleiteten Therapie von ausschlaggebender Bedeutung geworden ist, so müssen wir zunächst einmal für unser Testmaterial die analoge Frage erheben: Gibt es bei der Ngana-Erkrankung des Kaninchens eine ähnliche biologisch begründete Stadieneinteilung des Krankheitsverlaufes und lassen sich im Experiment jederzeit Verhältnisse schaffen, welche vielleicht dem primären, sekundären, tertiären und, wenn man so will, dem quaternären Stadium der Lues entsprechen?

Diese Frage nach den Analogien zwischen der Syphilis und der Trypanose hat in letzter Zeit in einer eingehenden Studie Stargardt erörtert (Ergänzungsheft zu Bd. 58 der Dermatolog. Wochenschrift).

Abgesehen von den hier zunächst nicht zu besprechenden sehr interessanten Gegenüberstellungen der Krankheitserscheinungen in den späteren Krankheitsstadien der Schlafkrankheit und der Syphilis, erregten mein Interesse die Mitteilungen, welche Stargardt am Anfang seiner Arbeit macht über experimentell erzeugte „schankerähnliche" Krankheitserscheinungen beim Kaninchen. Hier schien mir der Ausgangspunkt zu liegen für die oben angedeuteten Bestrebungen, und ich stellte sofort ähnliche Versuche an, über deren Ergebnisse ich im folgenden berichten möchte.

Was bisher in der Literatur über lokale Erscheinungen bei Trypanosomenerkrankungen niedergelegt ist, hat Stargardt (l. c.) ausführlich zusammengestellt. Es mag hier also zur Orientierung nur kurz darauf hingewiesen werden, daß lokale Vermehrung und damit verbundene entzündliche Gewebsreaktion zunächst beim Tier im Verlaufe der Dourine-Erkrankung (Beschälseuche) der Pferde bekannt geworden sind. Hierher gehören Schwellungen der Geschlechtsteile, welche 1—4 Wochen nach dem Deckakt entstehen, zum typischen Krankheitsbilde. Mikroskopisch sind von Schubert und Böing Untersuchungen angestellt worden, welche im wesentlichen das Ergebnis hatten, daß in die Haut eingebrachte Trypanosomen sehr rasch in den Lymphbahnen den Ort der Inokulation verlassen und im Corium und Unterhautbindegewebe den Lymphdrüsen zustreben. Die Verfasser ziehen daraus den Schluß, daß wir es bei den Trypanosomen nicht, wie man durchweg angenommen hatte, mit vorwiegenden Blutparasiten zu tun haben, sondern das mindestens für diese erste Zeit der Infektion die Erreger eine deutliche Vorliebe für das Lymphgefäßsystem zeigen, Eigenschaften, welche schon an sich die Verwandtschaft der Trypanosomen und Syphilisspirochäten in biologischem Sinne nahelegen. Emmerich, der gemeinsam mit Uhlenhuth Untersuchungen über ähnliche Fragen anstellte, konnte Vermehrung der Ngana-Trypanosomen im Kaninchenhoden am Orte der Injektion nicht feststellen.

Aus der menschlichen Pathologie finden sich Beobachtungen über lokale Erscheinungen bei Trypanosomeninfektionen in der Literatur über die Schlafkrankheit. Zuerst von Manson (1903), dann aber auch von anderen, vorwiegend französischen Autoren wurden Fälle mitgeteilt, in denen sich bei eben von Insekten gestochenen Individuen an der Stichstelle ein furunkelähnlicher Entzündungsherd mit Schwellung, Rötung und heftigen Schmerzen entwickelte. Es wird von den Autoren hervorgehoben, daß es dabei niemals zur Eiterung kam. Diese Tatsache veranlaßte die Beobachter, diese von Ringenbach zuerst als „Trypanosomen-Schanker" bezeichneten Gebilde mit dem Namen „Furuncle sans tête" zu belegen. Nach der Abheilung und dem Uebergang der Erkrankung in das Stadium der Allgemeininfektion blieb in solchen Fällen an der Stelle des „Schankers"

ein ovaler, unempfindlicher, hellrötlicher Fleck zurück, der meist erst mit eingeleiteter Therapie gänzlich verschwand.

Stargardt versuchte nun ähnliche Gebilde bei Kaninchen durch Injektion mit Ngana-Trypanosomen zu erzeugen. Er wählte als Stelle der Injektion die Conjunctiva bulbi oberhalb des Cornealrandes. Spritzte er hier Rattenblut ein, welches zahlreiche Trypanosomen enthielt, so kam es sehr schnell zur Allgemeininfektion, ohne daß bemerkenswerte lokale Erscheinungen auftraten. Wurden dagegen nur wenig Trypanosomen unter die Bindehaut injiziert, so traten in mehreren Fällen, noch ehe Trypanosomen im Blute nachweisbar waren, an der Injektionsstelle knotenförmige, entzündliche Verdickungen auf, welche die allergrößte Aehnlichkeit mit den syphilitischen Primäraffekten an der Conjunctiva hatten.

Da Stargardt nun angibt, daß er seine Trypanosomenschanker lediglich mit einem einzigen Ngana-Stamm erhielt, nicht aber mit einem anderen, so interessierte mich zunächst die Frage, ob auch der mir aus dem Ehrlichschen Institut zur Verfügung stehende Ngana-Stamm (Morgenroth) solche Erscheinungen mache.

Meine Versuche ergaben an einer großen Reihe (25—30 Kaninchen verschiedener Rassen) 100 Proz. positive Resultate.

Ich verfuhr bei der Infektion so, daß ich stets aus einer Maus infizierte, die am 2. Tage nach reichlicher intraperitonealer Infektion zahlreiche Trypanosomen im Blute enthielt. Ich stellte eine Aufschwemmung her, welche im Gesichtsfeld (Zeiss DD, Kompens.-Okular 6) 1, höchstens 2 Trypanosomen enthielt. Hiervon injizierte ich mit sehr feiner Kanüle nach vorhergehender Kokainisierung 0,1 ccm unter die Bindehaut dicht oberhalb des Limbus corneae. Die Bindehaut wölbte sich stets halbkugelförmig vor.

Die Entwicklung der Krankheitserscheinungen war in allen Fällen nahezu völlig die gleiche:

Am 1. Tage nach der Infektion war die Bindehaut stets absolut reizlos. Keinerlei Gefäßinjektion, Rötung oder dgl. wies auf den stattgehabten Eingriff hin. Aber zuweilen bereits am 2. Tage, fast durchweg aber am 3. Tage, zeigte sich in einem scharf umschriebenen Bezirk, welcher etwa an Ausdehnung der bei der Injektion durch die Flüssigkeit blasig abgehobenen Bindehautpartie entsprach, lebhafte Gefäßinjektion und beginnendes Oedem, das bis zum Limbus heranreichte. Im Verlaufe des nächsten Tages nahm diese stets

scharf umschriebene Schwellung der Conjunctiva erheblich zu. Das Gewebe verfärbte sich zuweilen leuchtend hellrot, zuweilen aber auch dunkelblaurot. Häufig, aber durchaus nicht immer, beteiligte sich bereits in so früher Zeit die Cornea mit einer feinen rauchigen Trübung im oberen Abschnitt an dem Krankheitsbilde. Ferner gesellten sich zu diesen absolut lokalen Entzündungserscheinungen schon frühzeitig Zeichen leichter Allgemeinreizung der Conjunctiva, etwas Gefäßinjektion und spärliche Eitersekretion. Im Verlaufe des 5. Tages breitete sich dann in der Regel der bisher scharf umschriebene Prozeß weiter aus. Die Schwellung griff auf die Conjunctiva des Oberlides und auf die Palpebra tertia über, hier bald von einer trüben blauroten Infiltration des Gewebes gefolgt. In den nächsten Tagen erreichten dann die Erscheinungen ihren Höhepunkt, indem das ganze Oberlid ziemlich prall infiltriert und die Conjunctiva in höchstem Maße geschwellt erschien, so daß das Oberlid ganz auffällig dachähnlich prominierte. Die Trübung der Cornea nahm in diesem Stadium in der Regel bereits wieder etwas ab, obwohl noch eine deutliche Chemose mit hämorrhagischer Infarcierung des conjunctivalen Gewebes bestand.

Der weitere Verlauf war nun entweder so, daß die lokalen Erscheinungen immer weiter zurückgingen, um schließlich in Heilung überzugehen, oder aber sie gingen nach anfänglicher deutlicher Rückbildung allmählich in jenes diffuse Oedem über, wie es bei dem typischen Bilde der Ngana-Erkrankung bei Kaninchen in ihren Spätformen bereits hinlänglich bekannt ist.

Unser besonderes Interesse nahmen natürlich die Parasitenbefunde in Anspruch. Was zunächst die lokalen Krankheitserscheinungen betrifft, so konnte ich in einigen Fällen bereits bei eben beginnender ödematöser Schwellung der Conjunctiva genau an dem Orte der Injektion durch leichtes Abkratzen der oberflächlichsten Epithelschichten mit einer Deckglaskante massenhaft Trypanosomen nachweisen. Stets waren sie außerordentlich zahlreich am 3. Tage zu finden, wenn jenes blaurote, scharf umschriebene Oedem an der Injektionsstelle sich ausgebildet hatte. In der Regel erwies sich zu dieser Zeit das Blut sowohl mikroskopisch wie im Impfversuch als frei von Krankheitserregern.

Die Blutinfektion trat in den meisten Fällen am 4. oder 5. Tage auf, sie konnte allerdings manchmal zu dieser Zeit lediglich durch Mäuseimpfung nachgewiesen werden, während sich im mikroskopischen Präparat auch bei genauem Suchen in vielen Präparaten keine Trypanosomen finden ließen.

Der mikroskopische Befund bestätigte den pathologisch-anatomischen vollauf. An einem Sagittalschnitt durch einen solchen Conjunctivalschanker auf der Höhe der Entwicklung am 5. Tage konnte ich folgendes feststellen:

Hochgradig entzündliche Veränderungen finden sich hauptsächlich in der Conjunctiva bulbi, vom Limbus an beginnend. Sie erstrecken sich über die Uebergangsfalte auch auf die Conjunctiva tarsi nahezu in gleicher Stärke bis zum vorderen Lidrand. Das Epithel ist überall ziemlich gleichmäßig aufgelockert und mit polynukleären Leukocyten infiltriert, auf der Oberfläche mit eitrigen Auflagerungen versehen. Am stärksten ist die entzündliche Infiltration in den Bindegewebsschichten unmittelbar unter dem Epithel, hier sieht man in einem Streifen, welcher an Breite etwa das 5-fache des Epithels ausmacht, das Gewebe ganz dicht mit polynukleären Leukocyten durchsetzt. Nur spärlich beteiligen sich in dieser Schicht Plasmazellen an der Infiltratbildung. Unmittelbar unter dieser Schicht, und zwar scharf gegen dieselbe abgegrenzt, folgt nun eine breite Zone, in der das Bindegewebe außerordentlich ödematös aufgelockert, weitmaschig erscheint. Der im Vergleich zu der ersten Schicht verhältnismäßig spärliche zellige Anteil besteht hier ganz vorwiegend aus Plasmazellen. Dieses ödematöse Gewebe kann man nun vom Limbus weit nach hinten verfolgen. Es ist hie und da von Blutgefäßen durchsetzt, an denen entlang eine starke entzündliche Infiltration sich in die benachbarten Gewebe vorschiebt. Solche Infiltrationszüge in der Nachbarschaft der Gefäße konnten sowohl im Tarsus, zwischen den Meibomschen Drüsen, wie auch in den muskulären und bindegewebigen Teilen des Oberlides und der Orbita festgestellt werden. Uebereinstimmend mit Stargardt konnte ich Trypanosomen an diesem Augenschanker in den Schnitten nur verhältnismäßig spärlich auffinden. Sie fanden sich ausschließlich in der Schicht dichter Infiltration unmittelbar unter

dem Epithel, während ich sie in dem vorwiegend ödematösen Gewebe der zweiten Schicht nicht fand.

Meine Ergebnisse an diesen Augenschankern weichen demnach nur unwesentlich von den Befunden Stargardts ab. Jedenfalls fand ich bestätigt, daß sich beim Kaninchen nach schwacher Infektion subconjunctival an der Stelle der Infektion nach kurzer (1—2-tägiger Inkubation) umschriebene Krankheitserscheinungen entwickeln. Man kann das Bild so zusammenfassen, daß sich die Erreger vornehmlich in der Bindegewebsschicht unmittelbar unter dem Epithel vermehren, in den Gewebsspalten nach der Peripherie zu weiterwandern und so die Entzündungserscheinungen allmählich von der Injektionsstelle auf die gesamte Conjunctiva des oberen Augenabschnittes verbreiten. Vereinzelte finden ihren Weg auch in die Cornea selbst, hier jene rauchige Trübung veranlassend. Als eine Abwehrmaßregel muß man wohl das sehr charakteristische Oedem der zweiten Schicht auffassen, welches gemeinsam mit den dort auftretenden zahlreichen Plasmazellen einen Schutzwall des Körpers gegen den primären Krankheitsherd darstellt. Im weiteren Verlaufe finden nun die Erreger in den Lymphbahnen entlang den Gefäßen ihren Weg auch in die entfernteren Gewebe und gelangen schließlich in die Blutbahn.

Ich erwähnte oben bereits, daß dieser Vorgang sich bei meinen Versuchen mit dem Morgenroth-Stamm stets so abspielte, während Stargardt anscheinend nur in manchen Fällen solche lokalen Erscheinungen bei seinen Tieren auftreten sah.

Dies veranlaßte mich, auch am Scrotum des Kaninchens ähnliche Inokulationsversuche zu machen, da ich erwartete, daß hier ebenfalls die lokalen Erscheinungen gut zu beobachten sein würden. Meine Vermutung fand ich bald bestätigt.

Auch hier entwickelte sich in jedem Falle an der Infektionsstelle eine scharf umschriebene ödematöse Schwellung, in deren Reizserum ich ebenfalls wieder bei negativem Blutbefunde massenhaft lebhaft bewegliche Trypanosomen nachweisen konnte. Der Verlauf eines solchen „Trypanosomen-Scrotalschankers“ sei hier an einem Beispiel erläutert:

K. 201.

Datum	Befund	Tryp. Blut	Tryp. Scrot.
19. V.	Infektion links intradermal am Scrotum 0.1 einer Trypanosomenaufschwemmung 1 : 1 (Zeiß DD, Kompens. 6).	—	—
20. V.	Reizlos.	—	—
21. V.	Ganz schwaches, eben fühlbares Oedem an der Stelle der Injektion.	—	—
22. V.	Umschriebenes, schwach blaurot gefärbtes weiches Infiltrat, das sich ziemlich scharfrandig in etwa 10-Pfennigstückgröße gegen das zarte, gesunde Gewebe absetzt.	—	+
23. V.	Die ödematöse Schwellung hat zugenommen, das Gewebe ist sulzig verdickt, die Falten der Oberhaut vergröbert. Die ödematöse Platte zeigt besonders im Zentrum etwas hämorrhagische Infarcierung der tieferen Gewebsschichten. Die Veränderungen haben sich um etwa die Hälfte des gestrigen Durchmessers nach allen Seiten ausgebreitet. Die scharfe Abgrenzung gegen das gesunde Gewebe ist noch deutlich.	—	+++
24. V.	Das ganze linke Scrotum ist um etwa das 3-fache der rechten (gesunden) Seite vergrößert. Die Scrotalhaut erscheint in ganzer Ausdehnung der scharf begrenzten Veränderung mattblaurot verfärbt, zum Teil hämorrhagisch. Es besteht ein erhebliches entzündliches Infiltrat, welches sich teigig anfühlt. Die Haut ist auf der Höhe der Veränderung ziemlich stark gespannt, so daß zum Teil spiegelnder Glanz zustande kommt. Auf Druck entleert sich aus den leicht platzenden oberflächlichen Schichten reichlich klare, gelbliche seröse Flüssigkeit, welche massenhaft lebhaft bewegliche Trypanosomen enthält. Der ganze „Schanker“ läßt sich von dem unterliegenden Hoden leicht abheben, ist überhaupt völlig frei beweglich. Linksseitig sind die zugehörigen Unterbauchdrüsen deutlich vergrößert, hart.	+ d. J.	+++
25. V.	Lokal im wesentlichen unverändert.	+ mikr.	+++
26. V.	Die ödematöse Schwellung nimmt deutlich ab. Die Oberfläche ist welk, nicht mehr spiegelnd.	+ w	+++
27. V.	Weitere Abnahme der Erscheinungen. Die Stelle ist schmutzig-braunrot verfärbt, in grobe Falten gelegt, aber immer noch deutlich verdickt.	—	+
2. VI.	Noch immer brauner, etwas verdickter Fleck, in etwas wulstige Falten gelegt.	—	—

Wir sehen also auch hier, als Folgeerscheinung der Vermehrung der Krankheitserreger an der Stelle der Infektion entzündliche Reaktion des Gewebes und in weiterer Umgebung einen Schutzwall von ödematöser Schwellung, wie wir ihn ähnlich bei den Primäraffekten der menschlichen Lues zu finden gewohnt sind. Allmählich breitet sich der Prozeß weiter aus, die Erscheinungen schreiten nach der Peripherie zu fort, einzelne Krankheitserreger durchbrechen den Reaktionswall und finden ihren Weg zunächst zu den Drüsen. Diese schwellen an, können aber schließlich den Einbruch der Erreger in die Blutbahn nicht verhindern.

Mikroskopisch ist das Bild bei diesen Scrotalaffektionen viel deutlicher und prägnanter als das oben beschriebene des „Augenschankers". Das Epithel sowohl wie die unmittelbar darunter gelegenen Schichten des Bindegewebes zeigen lebhafte entzündliche Infiltration, an welcher sich vorwiegend polynukleäre Leukocyten und nur wenige Plasmazellen beteiligen. Von dieser Schicht ziemlich stark abgesetzt, folgt darunter ein Streifen stark ödematös aufgelockerten Bindegewebes, dessen zellige Elemente zum großen Teil aus Plasmazellen bestehen. Nur in der Umgebung der Gefäße, welche diese Schicht durchziehen, sieht man lebhaftere kleinzellige Infiltration, ähnlich wie sie oben bei den Augenschankern beschrieben wurde.

Vorzüglich ist nun im Gegensatz zu dort, an den Schnitten die Verteilung der Trypanosomen im Gewebe zu studieren. In der oberflächlichen entzündlichen Schicht ist das Gewebe geradezu durchsetzt mit den Erregern. Sie finden sich überall in den Gewebsmaschen, ziemlich gleichmäßig über den ganzen Bereich der entzündlichen Veränderung verteilt. Nur in der Umgebung der Gefäße ist eine gewisse Anhäufung der Trypanosomen zu erkennen. In dem ödematösen Gewebe unterhalb des eigentlichen Entzündungsbereiches konnte ich dagegen frei im Gewebe keine Erreger feststellen. Lediglich in der Nachbarschaft der Gefäße, wo sich das oben beschriebene entzündliche perivaskulare Infiltrat fand, waren sie erkennbar, an einigen Stellen frei in den begleitenden Lymphbahnen liegend. Die Blutgefäße waren überall intakt. Trypanosomen waren in den Gefäßen nirgends erkennbar.

Nimmt man alle diese Ergebnisse zusammen, so kann man feststellen, daß wir in der Tat in der Lage sind, auf dem von Stargardt zuerst beschrittenen Wege jederzeit experimentell lokale Trypanosomenerkrankungen beim Versuchstier hervorzurufen. Diese führt erst nach etwa 3 bis 5 Tagen zu einer Allgemeininfektion des Tieres und hat pathologisch-anatomisch eine recht weitgehende Aehnlichkeit mit der lokalen Spirochätose der Tiere und des Menschen. Analog der Nomenklatur, welche bei der Syphilis gebräuchlich ist, wäre demnach diese lokale Trypanose als **„primäre“** Trypanosomiasis zu bezeichnen.

Uebergang von der primären zur sekundären Trypanosomiasis.

Es leuchtet ohne weiteres ein, daß in dieser primären Trypanose des Kaninchens ein Versuchsmaterial gewonnen worden ist, welches bei der chemotherapeutischen Verwandtschaft zwischen Trypanosomen und Spirochäten große Bedeutung haben kann. Und diese Bedeutung würde noch weiter gesteigert werden, wenn es gelänge, nun ausgehend von diesen den „Primäraffekten“ der Lues entsprechenden lokalen Krankheitserscheinungen, auch in dem weiteren Krankheitsverlaufe bei den infizierten Kaninchen einzelne Stadien abzugrenzen. Um hier zum Ziele zu kommen, wären also folgende Fragen zu beantworten:

1) Wann tritt die Allgemeininfektion des Körpers vom lokalen Herd aus ein?

2) Lassen sich in dem Auftreten der Erreger im Blute irgendwelche Gesetzmäßigkeiten erkennen?

3) Wie reagiert der Körper auf die eingedrungenen Erreger? Bildet er Antistoffe und wie wirken diese auf die Erreger ein?

1. Was zunächst den Eintritt der Allgemeininfektion betrifft, so fand ich in der Literatur darüber nur spärliche Angaben. Ueberhaupt hat die experimentelle Ngana-Infektion der Kaninchen bisher keine so spezielle Bearbeitung gefunden, daß man über den Zeitpunkt des Auftretens von Erregern im Blute Genaueres entnehmen könnte. Die meisten

Autoren begnügen sich mit der Angabe der Krankheitsdauer von 3—6—8 Wochen, stellen die üblichen Spätsymptome fest, bestehend in starken ödematösen Schwellungen der Lider, der Lippen der Genitalien usw., und geben fast übereinstimmend an, daß die Trypanosomenbefunde im Blute der erkrankten Tiere außerordentlich wechselnd und überhaupt durchweg sehr spärlich seien.

Auch in der letzten Auflage des Handbuches der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann macht Martin Mayer nur die Mitteilung, daß die Trypanosomen oft nur durch Rattenimpfung nachweisbar seien.

Als ich zu Anfang meiner Versuche an Kaninchen noch die intravenöse Infektionsart bevorzugte, machte ich übereinstimmend bei fast allen Tieren die Beobachtung, daß bei reichlicher Infektion die Erreger zunächst am 1. und 2. Tage nach der Infektion unter Umständen recht reichlich im Blute nachweisbar waren (1—10 im Gesichtsfeld Zeiss DD. Komp. 6). Gewöhnlich am 3. Tage aber wurde das Blut mikroskopisch frei von Trypanosomen gefunden, um erst nach etwa 8 bis 10 Tagen erneut zuweilen sehr reichliche Erreger zu zeigen. Aber auch diese Periode dauerte meist nur 2 Tage. Und von da an begann dann eine Zeit, in der die Befunde außerordentlich wechselten, heute spärliche, morgen gar keine gefunden wurden. Allmählich stellten sich dann bei diesen Tieren im Verlauf der 3. und 4. Woche nach der Infektion die von allen Autoren als so charakteristisch beschriebenen ödematösen Veränderungen an den Lidrändern, der Nase und den Genitalien ein. Gleichzeitig mit diesen schweren lokalen Veränderungen entwickelte sich dann meist eine hochgradige Schwäche, die Tiere magerten hochgradig ab und gingen in der Regel im Verlauf der 5.—7. Woche ein.

Ich fand also zwar für die Spätperiode der Erkrankung, während der die lokalen Oedeme das Gesamtbild beherrschen, die Angabe der Autoren über das spärliche und schwankende Vorhandensein der Erreger im Blute bestätigt, glaube aber für die der Infektion unmittelbar folgende Frühperiode eine gewisse Gesetzmäßigkeit erweisen zu können.

Ich beschränkte mich bei diesen Untersuchungen nicht auf das bloße Studium des mikroskopischen Parasitenbefundes,

sondern zog von vornherein Untersuchungen über die Immunitätsverhältnisse zur Unterstützung heran.

Ueber die Bildung von spezifischen Antistoffen im Verlauf von Ngana-Erkrankungen liegen mannigfache Untersuchungen vor. Schilling erörtert alle hier in Betracht kommenden Ergebnisse in dem Kapitel über „Immunität bei Protozoenerkrankungen" im Handbuch von Kolle und Wassermann. Aber auch in diesem für unseren Zweck so wesentlichen Punkte konnte ich in der Literatur keine so exakten Angaben über den Zeitpunkt des Auftretens der Schutzstoffe im Blute infizierter Tiere finden, wie ich sie brauchte.

Bei dem Verlauf der Parasitenkurve nach intravenöser Infektion konnte es wohl keinem Zweifel unterliegen, daß hier die im Anschluß an die Infektion sich massenhaft vermehrenden Erreger durch eine vom 2. oder 3. Tage an einsetzende Schutzstoffbildung aus dem Blute verdrängt wurden. Diese Schutzstoffbildung reicht aber nicht aus, um die Infektion völlig zum Erlöschen zu bringen, es entwickelt sich vielmehr nach einem nahezu parasitenfreien Intervall eine zweite Generation von Erregern, welche nun gegen die früher gebildeten Schutzstoffe unempfindlich geworden sind (Rezeptorenschwund, Ehrlich). Wir hätten es demnach mit im Gegensatz zu der der Infektion unmittelbar folgenden primären Durchseuchung bei der am 9. Tage etwa folgenden sekundären Ueberschwemmung des Organismus mit einem 1. Rezidivstamm zu tun, der sich von dem Ausgangsstamm dadurch unterscheiden müßte, daß er gegenüber den Schutzstoffen erster Ordnung unempfänglich, d. h. serumfest geworden ist.

Diese serumfesten Rezidivstämme, für welche Ehrlich mit seiner Theorie der spezifischen Nutrizeptoren eine Erklärung gegeben hat, haben in allerletzter Zeit im Ehrlichschen Institut eine erneute eingehende Bearbeitung erfahren. Die interessanten Mitteilungen, welche Ritz auf der Tagung der Deutschen Tropenmedizinischen Gesellschaft am 9. April 1914 in Berlin (Deutsche med. Wochenschr., No. 27, S. 1355) über seine Untersuchungsergebnisse machte, lassen keinen Zweifel darüber, daß den Trypanosomen eine nahezu unbegrenzte Mutationsfähigkeit innewohnt. Ritz konnte z. B. aus einer Maus 17 verschiedene Rezidivstämme züchten, welche

sich alle immunisatorisch streng voneinander unterschieden. Diese Anpassungsfähigkeit der Trypanosomen an den Wirtsorganismus muß in therapeutischem Sinne freilich als äußerst ungünstig bezeichnet werden, da wir niemals im späteren Verlauf einer Erkrankung auf die Mitwirkung von spezifischen Immunkörpern rechnen können.

Für eine genaue Beurteilung nun der Vorgänge im primär, d. h. zunächst lokal infizierten Tiere mußte es außerordentlich interessant sein, den Uebergang des primären Erregerstammes in den sekundären Rezidivstamm zu verfolgen.

Zunächst sei hier ein typisches Beispiel des Verhaltens bei intravenöser Infektion kurz angeführt:

K. 9.

9. II.	Infektion aus Ratte	
10. II.	+ w	
11. II.	+ klinisch ohne Erscheinungen.	Stamm K. 9 I
12. II.	bis 19. II. mikroskopisch negativ	
20. II.	+	Stamm K. 9 II
21. II.	+ w	
22. II.	—	
23. II.	—	
24. II.	+ w Hodenschwellung und Lidödem beiderseits	
etc.		

Am 11. II. wird dem Tiere Blut entnommen. Je 0,5 dieses trypanosomenhaltigen Blutes wird in vitro mit 1,0, 0,5, 0,25 und 0,125 Immunserum eines anderen Trypanosomenkaninchens im Spätstadium der Erkrankung zuammengebracht. Das Gemisch wird nach halbstündigem Kontakt Mäusen intraperitoneal injiziert (1,0 Gemisch pro 20 g Maus). Kontrollversuch mit dem Ausgangsstamm (Morgenroth). Ergebnis:

Injektion am 11. II.	Stamm K. 9 I				Ausgangsstamm				Kontrolle
	1,0	0,5	0,25	0,125	1,0	0,5	0,25	0,125	
12. II.	—	—	—	—	—	—	—	—	+
13. II.	—	—	—	—	—	—	—	—	++
14. II.	—	—	—	—	—	—	—	—	+++
15. II.	—	—	—	+ w	—	—	—	—	tot
16. II.	—	—	—	++	—	—	—	+	
17. II.	—	—	—	+++	—	—	—	++	
18. II.	—	—	—	tot	—	—	—	+++	
19. II.	—	—	—		—	—	—	tot	
20. II.	—	—	—		—	—	—		
dauernd frei					—	—			

Die Trypanosomen im Blute des Kaninchens am 2. Tage nach der intravenösen Injektion entsprechen demnach den Trypanosomen des Ausgangsstammes, mit welchem das Tier infiziert wurde.

Am 20. II., als das Tier zum zweiten Male größere Mengen Erreger im Blute zeigte, wurden diese sowohl wie der Ausgangsstamm in gleicher Weise diesmal gegen das eigene Immunserum des K. 9 ausgewertet. Ergebnis:

Injektion am 21. II.	Stamm K. 9 II				Ausgangsstamm				Kontrolle
	1,0	0,5	0,25	0,125	1,0	0,5	0,25	0,125	
22. II.	—	+ w	+	+	—	—	—	—	+
23. II.	+	+	++	++	—	—	—	—	++
24. II.	++	++	+++	+++	—	—	—	—	+++
25. II.	+++	+++	tot	tot	—	—	—	+ w	tot
26. II.	tot	tot			—	—	—	+	
27. II.					—	—	—	++	
28. II.					—	—	—	+++	
1. III.					—	—	—	tot	
2. III.					—	—	—		
					dauernd frei				

Jetzt zeigte das Serum des Kaninchens nur eine hemmende Wirkung gegenüber dem Ausgangsstamm. Die Trypanosomen im eigenen Blute konnte es nicht mehr beeinflussen, sie waren serumfest geworden. Aus der primären Trypanose des Tieres war also die sekundäre geworden. Die „sekundären" Erreger stellen einen Rezidivstamm I. Ordnung dar, welcher sich von dem infizierenden Ausgangsstamm biologisch unterscheidet.

Mit dem Uebergang von der intravenösen zur lokalen Infektion mußten sich diese relativ klaren Verhältnisse naturgemäß komplizieren, weil ja hier die Erreger nicht mit einem Schlage in die Blutbahn eingeführt werden, sondern erst allmählich im Verlauf der Entwickelung des „Schankers" hier und da aus den Lymphwegen in die Blutbahn einbrechen können.

Wie schon oben aus dem Beispiel des Scrotalschankers ersichtlich ist, muß man während der Ausbildung des lokalen Entzündungsherdes bereits am 3.—4. Tage mit dem Vorhandensein von Trypanosomen im Blute rechnen. Man muß ferner annehmen, daß nun immerwährend im Verlauf der

nächsten Tage neue Erreger in die Blutbahn eindringen. Man wird also von vornherein hier bei sozusagen 4—5 Tage währender Infektion nicht damit rechnen können, so exakt den Uebergang des primären Stammes in den sekundären Rezidivstamm feststellen zu können.

Ein Versuch, bei dem unter Benutzung der 4 vorhandenen Infektionsstellen zugleich die Frage der mehrfachen oder Superinfektionen in Angriff genommen wurde, mag hier als Beispiel lokaler Infektion Platz finden.

K. 246.

Datum	Klinisches	Trypanosomen	
		Lokal	Blut
30. VI.	Scrotalinfektion links. I. Infektion		
1. VII.	Reizlos		
2. VII.	Ganz geringes Oedem, umschrieben an der Infektionsstelle	—	
3. VII.	Deutliches, ziemlich scharf umschriebenes Oedem, beginnende hämorrhagische Infarcierung des Gewebes an der Injektionsstelle. Mäßige Drüsenschwellung	+	—
3. VII.	Blutentnahme zum Serumversuch I (s. unten)	L. Scrot. +++	—
	II. Infektion am linken Auge		
4. VII.	L. Scrotum: weiter fortgeschritten. Starkes, umschriebenes Oedem blaurot verfärbt, hämorrhagisch L. Auge: reizlos	L. Scrot. +++	+
5. VII.	L. Scrotum: höchster Grad der Veränderungen. Harte Drüsen in inguine L. Auge: an der Stelle der Infektion lebhafte Gefäßinjektion und beginnende ödematöse Schwellung der Conj. bulb.	L. Scrot. +++ L. Auge ++	+
6. VII.	L. Scrotum: im wesentlichen unverändert stark L. Auge: umschriebene Rötung und Schwellung der Conj. bulb. bereits etwas auf die Palp. tertia übergreifend. Beginnende rauchige Trübung der Cornea in ihren obersten Abschnitten. Blutentnahme zum Serumversuch II (s. unten)	L. Scrot. +++ L. Auge ++	—
	III. Infektion am rechten Auge		
7. VII.	L. Scrotum: Schwellung beginnt etwas zurückzugehen L. Auge: Chemose und blaurote Verfärbung der Conj. tarsi sup. und bulb. stärker. Trübung der Cornea unverändert R. Auge: Ganz geringe Injektion an der Infektionsstelle	L. Scrot. +++ L. Auge ++ R. Auge —	—

Datum	Klinisches	Trypanosomen	
		Lokal	Blut
8. VII.	L. Scrotum: Schwellung geht weiter zurück. Gewebe welk, in grobe Falten gelegt, zum Teil mit hämorrhagischen Krusten bedeckt L. Auge: deutliche, harte Infiltration und dachähnliches Prominieren des oberen Lides. Conjunktivalreizung und Chemose im Rückgang R. Auge: reizlos Blutimpfung auf Maus: am 5. Tage †	L. Scrot. ++ L. Auge +++ R. Auge —	—
9. VII.	L. Scrotum: weiter abgeschwollen. Die Krusten stoßen sich ab L. Auge: Infiltration des Oberlides hat stark abgenommen, Conjunctva nur mehr wenig ödematös. Cornea aufgehellt R. Auge: reizlos	L. Scrot. —	+ w
10. VII.	Die Erscheinungen an allen Infektionsstellen gehen weiter zurück. Sonst klinisch ohne Besonderheiten	Lokal überall —	+
11. VII.	Blutentnahme zum Serumversuch III Untersuchung der im Blute reichlich vorhandenen Trypanosomen auf Serumfestigkeit (s. unten)		+
12. VII.	IV. Infektion stark in das rechte Scrotum		—
13. VII.	R. Scrotum: reizlos		+ w
14. VII.	„ „ „ u. s. f.		—

Für das Angehen oder Ausbleiben der wiederholten Infektionen mußte die Bildung von spezifischen Antikörpern von ausschlaggebender Bedeutung sein. Es wurde deshalb das Blutserum des Tieres an den Tagen der verschiedenen Infektionen auf solche Immunstoffe gegenüber dem Ausgangsstamm untersucht. Gleichzeitig wurde das Serum von der letzten Entnahme (11. VII.) in paralleler Reihe mit den eigenen im Blute vorhandenen Trypanosomen angesetzt. Ergebnis: s. die Tabelle auf p. 332/33.

Wir sehen also bei dem lokal infizierten Tier prinzipiell den gleichen Vorgang, wie bei dem intravenös infizierten. Nach der Invasion der Erreger aus dem lokalen Affekte in die Blutbahn allmähliche Produktion von Antikörpern, welche mit dem 7.–8. Tage ihre volle Höhe erreicht. Unmittelbar darauf reichliches Auftreten der Erreger im Blute: Rezidiv-

stamm I. Ordnung, welcher sich von dem Ausgangsstamm durch Serumfestigkeit unterscheidet.

D e r V e r l a u f d e r m e h r f a c h e n e r n e u t e n I n f e k t i o n e n erklärt sich leicht aus dem allmählichen Ansteigen der Antikörpermenge im Blute. Die II. Infektion am 3. Tage findet trotz voll ausgebildeten „Primäraffektes“ noch einen „jungfräulichen“ Körper vor. Es besteht demnach kein Grund, daß nicht die Gewebe in der üblichen primären Weise auf die Infektion reagieren. Die III. Infektion dagegen geht kaum mehr an, weil am 6. Tage bereits recht erhebliche Mengen spezifischer Schutzstoffe gegen den Ausgangsstamm gebildet wurden. Die Schutzstoffproduktion steigt aber noch weiter an, eine erneute Infektion am 11. Tage hinterläßt keinerlei örtliche Erscheinungen.

Die Parasitenbefunde im Blute waren, wie erwartet werden mußte, bei dieser lokalen und noch dazu durch wiederholte Infektionen gestörten Inokulation der Erreger sehr unklare. Man kann sagen, daß vom 4. Tage an das Blut dauernd für Mäuse infektiös war, denn auch an dem mikroskopisch freien Tage (8. VII.) ging die Impfung auf einer Maus an. Gleichwohl ließ sich biologisch eine scharfe Grenze ziehen zwischen den „primären“ Erregern und den „sekundären“. D e r B e g r i f f G e n e r a l i s i e r u n g d e s V i r u s u n d s e k u n d ä r e U e b e r s c h w e m m u n g i s t d e m n a c h b e i u n s e r e r E r k r a n k u n g n i c h t i d e n t i s c h. Die allgemeine Dispersion der Erreger auf dem Blutwege erfolgte bereits unmittelbar nach Ausbildung ausgesprochener lokaler Reaktionserscheinungen. Trotzdem hatten diese Erreger noch durchaus den biologischen Charakter des Ausgangsstammes, und es bedurfte erst etwa 10-tägiger Anpassung, um aus ihnen den sekundären Rezidivstamm hervorgehen zu lassen.

Unmittelbar nach Ausbildung dieses antikörperfesten Stammes (nach etwa 2—3 Tagen) sahen wir nun in nahezu allen Fällen jene sogenannten S p ä t e r s c h e i n u n g e n auftreten, die als Oedeme der Genitalien, der Lippen, der Ohrwurzel etc. allgemein bekannt sind. Vorher waren die Tiere davon ganz frei. Ich möchte diese Erscheinungen als „s e -

I. Infektion 30. VI.,

Trypanosomenbefunde im Blut am	II. Infektion +				III. Infektion schw. +?			
Stamm:	Ausgangsstamm				Ausgangsstamm			
Serum:	vom 3. VII.				vom 6. VII.			
Menge:	1,0	0,5	0,25	0,125	1,0	0,5	0,25	0,125
1. Tag	+	+	+	+	—	—	—	—
2. „	++	++	++	+++	—	—	—	—
3. „	+++	+++	+++	tot	—	—	+	+
4. „	tot	tot	tot		+ w	+	++	++
5. „					++	++	+++	+++
6. „					+++	+++	tot	tot
7. „					tot	tot		
8. „								
9. „								
10. „								
11. „								
12. „								
13. „								
14. „								

kundäre“ auffassen, und glaube auf Grund der Untersuchungsergebnisse annehmen zu müssen, daß sich hier folgendes abspielt:

Der infizierte Körper reagiert zunächst auf die aus dem lokalen Primäraffekte in die Blutbahn eindringenden Erreger mit einer Schutzstoffbildung (humorale Umstimmung). Dieser Schutzmaßregel des Körpers, welche den Zweck hat, den Eindringlingen den Weg durch das Blut zu den Körpergeweben abzuschneiden, entziehen sich die Erreger durch ihre Mutationsfähigkeit. Nach kurzdauerndem Kampf haben sie sich den veränderten Bedingungen angepaßt und finden nun den Weg zu den Körpergeweben, da der Körper nicht so schnell in der Lage ist, nunmehr auch seinerseits neue Schutzstoffe gegen die veränderten Trypanosomen zu produzieren. Es bleibt den nunmehr direkt betroffenen Geweben vorderhand nur die Möglichkeit, sich durch entzündliche Reaktion der Angreifer zu erwehren. Der Uebergang vom primären zum sekundären Stadium der Kaninchentrypanosomiasis umfaßt demnach zwei sich folgende und gegen-

am 2. Tage +.

IV. Infektion — Ausgangsstamm vom 11. VII.				Rezidivstamm K. 246 I vom 11. VII.				Serum vom 11. VII. allein	Ausgangsst.	
1,0	0,5	0,25	0,125	1,0	0,5	0,25	0,125		Emulsion allein	Kontr.-Stamm
—	—	—	—	—	+ w	+	+	—	+	+
—	—	—	—	+ w	+	++	+++	—	++	+++
—	—	—	—	++	++	+++	tot	—	+++	tot
—	—	—	—	+++	+++	tot		—	tot	
—	—	—	+ w	tot	tot			—		
—	—	—	++					—		
—	—	—	+++					—		
—	—	—	tot					—		
—	—	—						—		
—	—	—						—		
—	—	—						—		
—	—	—						—		
—	—	—						—		
—	—	—						—		
*)	*)	*)						*)		

*) dauernd frei.

seitig bedingende Vorgänge: eine humorale Umstimmung des Körpers und eine Mutation der Erreger.

Soweit zunächst die Befunde an unseren Trypanosomenkaninchen. Bei der chemotherapeutischen Verwandtschaft der Ngana-Trypanosomen und der Syphilisspirochäte liegt es nahe, wie ich bereits eingangs andeutete. Analogieschlüsse von der einen auf die andere Erkrankung zu machen. Ich verkenne nicht, daß das etwas Bedenkliches an sich hat. Neisser weist ja mit Recht darauf wiederholt hin, daß bisher noch niemals der exakte Beweis erbracht werden konnte, daß überhaupt bei der Lues irgendwelche spezifischen Antikörperbildungen eine Rolle spielen, obwohl alles zu einer solchen Annahme dränge. Aber immerhin glaube ich doch, daß zunächst gewisse therapeutische Fragen, insbesondere der Salvarsandosierung, an dem von mir skizzierten Material einer Lösung näher gebracht werden könnten. Dann müßte es auch interessant sein, den Versuch zu machen, ob nicht aus einer analogen Auffassung der Vorgänge bei der menschlichen

Syphilis manche dort vorhandenen Fragen der Immunität und der Therapie gelöst werden könnten. Wenn dann auch die Existenz von spezifischen Schutzstoffen bei Lues vorderhand bloße Annahme bleiben sollte, so wäre doch wenigstens eine brauchbare Arbeitshypothese für weitere Studien an diesem „Paradigma“ gegeben.

Zusammenfassung.

1) Mit dem mir zur Verfügung stehenden Trypanosomenstamm (Morgenroth, aus dem Ehrlichschen Institut) konnte ich jederzeit lokale Tryanosomenerkrankungen beim Kaninchen hervorrufen (Conjunctival- und Scrotalschanker).

2) Diese lokale Erkrankung, bei welcher massenhaft Erreger im affizierten Gewebe festgestellt werden können, führt erst nach 3—5 Tagen zur Allgemeininfektion des Tieres.

3) Diese „Schanker“ haben pathologisch-anatomisch eine recht weitgehende Aehnlichkeit mit der lokalen Spirochätose der Tiere und des Menschen. Analog der Nomenklatur, welche bei der Syphilis gebräuchlich ist, wäre demnach diese lokale Trypanose als „primäre Trypanosomiasis“ zu bezeichnen.

4) Die allgemeine Dispersion der Erreger auf dem Blutwege erfolgt bereits unmittelbar nach der vollständigen Ausbildung des lokalen Affektes, aber die zunächst auf dem Wege über die Lymphspalten und -drüsen ins Blut eingedrungenen Trypanosomen zeigen noch die Eigenschaften des Ausgangsstammes (primärer Stamm).

5) Dieser Invasion des primären Stammes folgt eine allmählich gesteigerte Antikörperproduktion. Sie erreicht mit dem 7.—8. Tage ihre volle Höhe. Die Erreger verschwinden vorübergehend fast völlig aus dem Blute, um am 9. Tage wieder reichlich aufzutreten.

6) Der Rezidivstamm I. Ordnung ist dann ausgebildet. Er unterscheidet sich vom Ausgangsstamm durch seine Festigkeit gegenüber den Antikörpern I. Ordnung (serumfester „sekundärer“ Stamm).

7) Entsprechend dem Ansteigen der Antikörpermenge im Blute haften Reinfektionen mit dem Ausgangsstamm nur bis zum 4.—5. Tage. Ist der Sekundärstamm ausgebildet, so kann der Ausgangsstamm nicht mehr haften.

8) Unmittelbar nach der Ausbildung des serumfesten Sekundärstammes treten bei den Kaninchen jene sogenannten Späterscheinungen auf, die als Oedeme der Genitalien, der Lippen, der Ohrwurzel etc. allgemein bekannt sind. Ich fasse diese als „Sekundärerscheinungen“ auf, weil sie durch den sekundären Erregerstamm bedingt sind.

9) Sekundärerscheinungen können erst auftreten, nachdem sich die Erreger durch Mutation der Schutzstoffwirkung entzogen haben. Erst jetzt finden die Erreger den Weg zu den Körpergeweben. Es dauert geraume Zeit, bis der Körper nun wiederum gegen die veränderten Erreger Schutzstoffe bildet. Inzwischen bleibt den direkt betroffenen Geweben nur die Möglichkeit, sich durch entzündliche Reaktion der Angreifer zu erwehren.

10) Die untersuchte primäre und sekundäre Kaninchentrypanosomiasis bildet ein vorzügliches Material zur Klärung mannigfacher therapeutischer Fragen, vornehmlich der Salvarsandosierung.

11) Vielleicht lassen sich auf Grund der damit zu erzielenden Ergebnisse manche Fragen der Syphilispathologie und -therapie durch Analogieschluß beantworten.

[Aus dem Laboratorium des „Onze Lieve Vrouwe Gasthuis“ in Amsterdam.]

Eine neue Erklärung des Neisser- und Wechsbergschen Phänomens vermittels des „Phänomens der spezifischen Sprödigkeit“.

Von **B. P. Sormani,**
Privatdozenten der Serologie an der Universität in Amsterdam.

(Eingegangen bei der Redaktion am 28. April 1915.)

Uebersicht der einschlägigen Literatur.

1901 beschrieben M. Neisser und F. Wechsberg das Phänomen der „Komplementablenkung“ (Neisser- und Wechsbergsches Phänomen“). Dieses Phänomen ging hervor aus folgendem Versuch: $^{1}/_{5000}$ ccm von 24 Stunden alter Bouillonkultur von Vibrio Metschnikoff wurde in mehreren Röhrchen mit verschiedenen Quantitäten inaktivierten Immunserums gemischt. Jeder Mischung wurde eine gleiche Quantität aktiven homologen Serums zugesetzt und außerdem, um die Möglichkeit der Vervielfältigung zu sichern, noch 3 Tropfen steriler Bouillon. Darauf wurden sämtliche Röhrchen mit Kochsalzlösung bis zu 2,5 ccm aufgefüllt, darauf 3 Stunden in den Brutschrank gestellt. Nach diesem Zeitraum wurden 5 Tropfen aus jedem Röhrchen auf Agarplatten geimpft, und 24 Stunden später wurde die Kolonienzahl bestimmt. Aus dem Versuche (siehe Tabelle I) ging hervor, daß das Immunserum in einer Quantität von 0,005 und 0,01 die stärkste bakterizide Wirkung zeigt, daß aber bei größeren und kleineren Quantitäten die bakterizide Wirkung abnimmt, und daß schließlich in beiden Richtungen ein Punkt erreicht wird, wo das Immunserum vollkommen wirkungslos geblieben zu sein scheint.

Tabelle I.

Quantität einer 1-tägigen Bouillonkultur von Vibrio Metschnikoff	Inaktiviertes Immunserum eines Kaninchens gegen Vibrio Metschnikoff	Normales aktives Kaninchenserum	Keimzahl
$^1/_{5000}$ ccm	1,0 ccm	0,3 ccm	∞
" "	0,5 "	" "	∞
" "	0,25 "	" "	viele Tausende
" "	0,1 "	" "	einige Hunderte
" "	0,05 "	" "	± 100
" "	0,025 "	" "	± 50
" "	0,01 "	" "	0
" "	0,005 "	" "	0
" "	0,0025 "	" "	± 100
" "	0,001 "	" "	∞
" "	0,0005 "	" "	∞
" "	—	—	∞
" "	0,01 ccm	—	∞
—	1,0 "	—	0
$^1/_{5000}$ ccm	—	0,3 ccm	∞
—	—	1,0 "	0

Neisser und Wechsberg suchten eine Erklärung und fanden dieselbe, wie sie meinten, mit Hilfe der Ehrlichschen Auffassung.

Danach müßte man annehmen, daß bei den bakteriziden Serumwirkungen der freie Ambozeptor eine größere Avidität zu der Bakterienzelle besitzt, als der mit dem Komplement zum „Lysin“ vereinigte Ambozeptor. Das Komplement würde sich also zwar mit Ambozeptoren vereinigen, diese mit Komplement beladenen Ambozeptoren würden aber bei einem hinreichenden Ambozeptorüberschuß gar nicht an die Zelle gebunden werden. Man könnte auch, wie dies Paul Th. Müller in seinen „Vorlesungen“ tut, von einer stärkeren Avidität der freien Ambozeptoren zum Komplement sprechen, als sie den bereits an die Zelle verankerten Ambozeptoren zukommt. Zur Erklärung der Unmöglichkeit, die Erscheinung bei der Hämolyse nachzuweisen, brauchte man nur anzunehmen, daß die Avidität der Blutkörperchen zum „Lysin“ größer ist als zum freien Ambozeptor. Bei der Hämolyse also ein gerade umgekehrtes Verhalten als bei der Bakteriolyse.

In jedem Falle ist einleuchtend, daß die Entdecker des Phänomens sich nicht vereinigen können mit der Bordetschen Auffassung des Ambozeptors als „substance sensibilisatrice“ (empfindlich machende Substanz), nach der das Antigen durch die Einwirkung des Ambozeptors für das Komplement empfindlich gemacht wird. Je mehr „substance sensibilisatrice“, desto leichter erfolgt die Einwirkung des Komplements. Nach dieser Theorie läßt sich das Phänomen durchaus nicht erklären; nach Neisser und Wechsberg kann folglich umgekehrt diese Theorie nicht richtig sein, zumal es nicht möglich ist, die Erklärung zu verändern je

nach der Art des benutzten Antigens. Es kann nicht wundernehmen, daß die Neisser- und Wechsbergsche Erklärung im Laufe der Jahre seit 1901 angegriffen wurde.

Gruber spricht nicht von Ambozeptor, sondern im Sinne von Bordet von Präparator und glaubt, daß das Komplement unwirksam gemacht wird durch die „antikomplementäre Wirkung“ jedes inaktivierten Immunserums. Er leugnet das Bestehen des hypothetischen „Lysins“ (Ambozeptor verankert an Komplement), womit die Neisser- und Wechsbergsche Erklärung steht oder fällt. Wir wollen den Streit zwischen den Entdeckern und Gruber nicht weiter verfolgen, wir nehmen aber Kenntnis von der Meinung Metschnikoffs, der glaubt, daß die Erklärung sich auch geben läßt durch Annahme einer „Anticytase“, welche nach seiner Meinung in allen Seren, auch in den normalen, vorkommt. Beweise führt er aber nicht an.

Lipstein behandelt die verschiedenen Erklärungen und schließt, daß Neisser und Wechsberg recht haben. Er versucht z. B. den Beweis beizubringen, daß Gruber und Metschnikoff unrecht haben, indem er nachweist, daß die wirkliche Ursache in den Antikörpern selbst liegt, weil nach Wegnahme der homologen Ambozeptoren aus dem Immunserum das Phänomen nicht mehr zur Beobachtung kommt; was allerdings nicht als schlagender Beweis gelten kann, solange nicht feststeht, daß auch nicht etwas anderes auf diese Weise weggenommen wird.

Levaditi führt zur Erklärung eine neue Hypothese an, nachdem er die Unhaltbarkeit der ersten Erklärung nachgewiesen hat. Er sagt nämlich: Wenn sich wirklich Lysine in der Flüssigkeit gebildet haben, so haben wir nur die mit unkomplettierten Ambozeptoren beladenen Antigene abzuzentrifugieren und frische hinzuzusetzen. Es müßte dann durch die Lysine Auflösung eintreten, was aber nicht der Fall ist. Nach seinem Dafürhalten soll bei der Immunisierung des das Antiserum liefernden Tieres auch ein Antikörper entstehen, den er „ambocepteur inactif“ (wirkungsloser Ambozeptor) nennt. Dieser verbindet sich mit dem Antigen, welches folglich nicht mehr am „ambocepteur actif“ verankert werden kann. Den hypothetischen „ambocepteurs inactifs“ ist folglich eine größere Avidität zu dem Antigen zuzuschreiben, welche nur nicht zur Aeußerung kommen kann, wenn, wie es in den stärkeren Verdünnungen des Immunserums der Fall ist, die relativ größere Quantität „ambocepteurs actifs“ eine größere Massenwirkung ausübt. Das Komplement bindet sich an die Kombination: Antigen-ambocepteur inactif, und es entsteht keine Lysis.

Gay ist wieder anderer Meinung. Er stützt sich auf Gengous Entdeckung, daß spezifische Präzipitate Komplement binden können. Er weist das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen nach bei Hämolyseexperimenten und sieht, daß ein Präzipitat in der Flüssigkeit entsteht, worin die Blutkörperchen für die Sensibilisierung suspendiert sind, wenn er nämlich viel Antiserum für die Sensibilisierung derselben verwendet. Seines Erachtens ist damit die Erklärung gegeben: das Präzipitat bindet das Komplement, das sich folglich nicht mehr für die Hämolyse eignet.

Gay bringt also zwei neue Tatsachen vor: 1) daß bei Hämolyse das Phänomen zur Beobachtung kommt; 2) daß das hämolytische Serum noch eine andere Wirkung entfaltet als diejenige, der es seinen Namen verdankt, es präzipitiert nämlich die nicht ausgewaschenen Reste des Serums, und dieses Präzipitat bindet das Komplement. Vor Gay hat noch Morgenroth geglaubt, das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen bei der Hämolyse wahrgenommen zu haben. Es handelte sich hier jedoch, wie sich später gezeigt hat, um einen andersartigen Wirkungsmechanismus. Also haben weder Morgenroth noch Gay nachgewiesen, daß das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen, so wie es zum ersten Male wahrgenommen und beschrieben wurde, auch bei Hämolyse vorkommt, und folglich bleibt man denn auch noch immer überall dabei, daß es bei der Hämolyse noch nicht „einwandfrei" beschrieben wurde (Sachs). Nach den Gayschen Erklärungen wurden, soviel ich weiß, keine mehr bekannt gegeben.

Eigene Experimente.

Seit der Erscheinung meines ersten Artikels über die Σ-I-Bestimmung, in dem ich den Gebrauch einer bedeutenden Quantität hämolytischen Ambozeptors empfahl, entdeckte ich, daß nicht unter allen Umständen die darin angegebene Quantität von 8—12 Einheiten ungestraft angewendet werden durfte. Dies war unter anderem der Fall bei alten hämolytischen Seren, deren Titer gesunken war, ebenso wie bei einigen frischen Seren, deren Titer ziemlich niedrig geblieben war. Die Folge war immer, daß eine Quantität Komplement, welche zur Lösung von Blutkörperchen, die z. B. mit 4 Einheiten Ambozeptor sensibilisiert waren, hinreichte, als nicht hinreichend sich erwies für die Lösung von stärker sensibilisierten (vgl. Tabelle II).

Es geht hieraus deutlich hervor, daß wir hier ein Phänomen vor uns haben, das vollkommen mit dem von Neisser und Wechsberg beschriebenen übereinstimmt. Es ist von großer Wichtigkeit, sofort zu bemerken, daß die Blutkörperchen vor Zusatz des hämolytischen Serums so oft mit einer 0,85-proz. Salzlösung gewaschen waren, daß sich darin nach dem Abzentrifugieren kein Eiweiß mehr nachweisen ließ. Daher fiel die Möglichkeit fort, daß ein in der Salzlösung gebildetes Präzipitat das Komplement absorbierte, wie es Gay bei seinen Experimenten annehmen zu müssen glaubte. Nach diesem Verfahren wurden die Blutkörperchen

Tabelle II.

	Ambozeptor		Komplementmengen							
	Verdünnung	Einheiten	0,07	0,06	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	0,005
Hämolytischer Ambozeptor A, Titer 1:2500	1:25	100	.	.	—	±	+	+	+	+
	1:50	50	.	.	.	.	—	+	+	+
	1:100	25	.	.	.	.	—	±	+	+
	1:200	12½	.	.	.	.	—	±	+	+
	1:500	5	.	.	.	.	—	±	+	+
Hämolytischer Ambozeptor B, Titer 1:6000	1:50	120	±	+	+	+	+	+	+	+
	1:100	60	.	—	±	±	+	+	+	+
	1:200	30	.	.	.	.	—	±	+	+
	1:500	12	.	.	.	.	.	—	+	+
	1:1000	6	.	.	.	.	.	—	+	+
	1:2000	3	.	.	.	.	.	—	+	+
	1:3000	2	.	.	.	.	—	±	+	+

+ = keine Hämolyse; ± = partielle Hämolyse; — = komplette Hämolyse.

mit einer gleichen Quantität der in der Tabelle angegebenen Verdünnungen der hämolytischen Seren von verschiedener Stärke vermischt und 2 Stunden lang in den Brutschrank (37°) gestellt. Von den so erhaltenen sensibilisierten Blutkörperchen wurden nun je 2 Teile mit 1 Teil der verschiedenen Komplementverdünnungen gemischt, und es wurden schließlich jedem Röhrchen 2 Teile Salzlösung zugesetzt, so daß sämtliche Röhrchen die gleiche Quantität Flüssigkeit enthielten.

Aus Tabelle II ergibt sich weiter, daß von verschiedenen hämolytischen Seren eine verschiedene Anzahl Einheiten das Phänomen verursachen, trotzdem das nämliche Komplement angewendet wurde. Angesichts der Neisser- und Wechsbergschen Erklärung ist das unbegreiflich. Denn warum geben 60 Einheiten von B das Phänomen bereits deutlicher zu sehen als 100 Einheiten von A, wovon doch bei gleicher Blutmenge mehr freie Ambozeptoren übriggeblieben sein dürften als von den 60 Einheiten von B. Dieses Experiment wiederholte ich einige Male mit verschiedenen Seren und verschiedenen Blutkörperchen; immer war das Resultat gleichartig wie das oben beschriebene.

Noch in anderer Weise habe ich dargetan, daß die Anzahl freier Ambozeptoren zu dem Phänomen in keiner Beziehung steht. Ich mischte zwei gleiche Quantitäten Blut mit einer gleichen Quantität einer gleich starken Ambozeptorverdünnung (1 : 10) von Serum B in verschiedenen Zeiträumen (siehe Tabelle III), nämlich von einer Viertelstunde und 2 Stunden. Darauf wurden die Blutkörperchen wie im vorigen Experiment mit den Komplementverdünnungen von ungleicher Stärke vermischt und alles wieder in jedem Röhrchen auf 5 Teile aufgefüllt. Die Folge war, wie sich aus der Tabelle ergibt, daß die Blutkörperchen, die 2 Stunden lang der Wirkung des hämolytischen Serums ausgesetzt waren, weniger löslich waren als die, welche bloß 15 Minuten der Einwirkung des Serums unterlegen hatten. Es ist dies in Widerspruch mit der Neisser- und Wechsbergschen Erklärung; denn nach 15 Minuten müssen unbedingt mehr freie Ambozeptoren dagewesen sein als nach 2 Stunden. Hiermit, glaube ich, ist diese Erklärung als unzulässig erwiesen.

Tabelle III.

	Ambozeptor		Einwirkungszeit	Komplementmengen										
	Verdünnung	Einheiten		0,10	0,09	0,08	0,07	0,06	0,05	0,04	0,03	0,02	0,01	
1.	1:10	600	1/4 Stunde	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	1.
2.	1:10	600	2 Stunden	∓	∓	∓	∓	+	+	+	+	+	+	2.
3.	1:250	24	1/4 Stunde	—	—	—	—	—	—	—	—	±	+	3.
4.	1:250	24	2 Stunden	—	—	—	—	—	—	—	—	±	+	4.

Aus den letzten zwei Reihen der Tabelle III geht schließlich noch hervor, daß, wenn dasselbe Experiment mit demselben Ambozeptor in geringerer Stärke gemacht wurde (1 : 250 oder 24 Einheiten, welche nach 1/4 Stunde vollkommen verankert werden), der Unterschied in der Zeit der Sensibilisierung keinen Unterschied im Resultate hervorrief. Nur die stärkeren Konzentrationen verursachten also dieses Phänomen. Mit diesem Experiment werden aber die Ansichten von Levaditi und Gay noch nicht widerlegt. Gays Ansicht wurde aber schon teilweise widerlegt durch das vorige Experiment, aber außerdem tat ich noch folgendes: Wenn das hämolytische

Serum in bedeutender Quantität einer Verdünnung von Schafserum oder Hämoglobinlösung zugesetzt wurde, so entstand ein Präzipitat infolge der präzipitierenden Wirkung dieses Serums. Dieses Präzipitat fertigte ich in bedeutender Quantität an und machte damit die folgenden Versuche:

1. Das Präzipitat wurde sensibilisierten Blutkörperchen zugesetzt, welche mit 0,03 Komplement sich noch eben vollkommen auflösten.

Resultat: Es läßt sich keine Verminderung der Wirksamkeit des Komplements feststellen.

2. Präzipitat bei Zimmertemperatur 1 Stunde emulgiert in einer Komplementverdünnung, welche eben hinreicht für die Lösung einer bestimmten Blutemulsion.

Resultat: Keine Verminderung der Wirksamkeit.

3. Das zweite Experiment wurde wiederholt, jetzt aber wurde das Präzipitat 1 Stunde lang auf 37° in Komplement emulgiert.

Resultat: Aufhebung der Wirksamkeit dieser Komplementverdünnung.

Hieraus folgt, daß das Präzipitat zwar Komplement absorbieren kann, allein nur dann, wenn die Bedingungen dazu sehr günstig gestellt sind.

Schließlich wurde das erste Experiment noch einmal vorgenommen, aber jetzt so, daß die Blutkörperchen nicht zuvor sensibilisiert waren, sondern daß zu gleicher Zeit Blut, Ambozeptor, Komplement und Präzipitat zusammengefügt wurden.

Resultat: Die zuvor sensibilisierten Blutkörperchen brauchen 0,015 Komplement weniger.

Bei all diesen Experimenten war aber mindestens 25mal mehr Präzipitat zugesetzt, als während des Experiments mit schlecht oder gar nicht gewaschenen Blutkörperchen hätte entstehen können. Zur Kontrolle nahm ich denn auch dieses Experiment mit nicht gewaschenen Blutkörperchen vor, von denen nur das Serum abzentrifugiert war, und fand, daß dann bloß 0,005 Komplement mehr für die Hämolyse erforderlich wurde, als wenn die Blutkörperchen gut gewaschen waren.

Nach meinem Dafürhalten ist hiermit die Gaysche Theorie hinreichend widerlegt.

Gegen Levaditis Erklärung ist kein Beweis beizubringen, angesichts dessen, daß sein „ambocepteur inactif" nur ein hypothetischer Körper ist, dessen Bestehen oder Nichtbestehen sich in keiner Weise beweisen oder bestreiten läßt. Nur wenn eine bessere, auf wahrnehmbare Tatsachen fußende Erklärung gegeben werden kann, ist es möglich, die Unwahrscheinlichkeit seiner Hypothese ins Licht zu stellen.

Aus folgendem ergibt sich, daß dies möglich ist. Aus sämtlichen oben beschriebenen Experimenten erhellt, daß nicht die Ambozeptorwirkung des hämolytischen Serums das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen verursachte, daß vielmehr dieses Serum in anderer Weise die Blutkörperchen beeinflußte, wodurch dieselben unlöslich für Komplement wurden. Um dies noch entscheidender darzutun, wurde das Experiment der Tabelle III wiederholt; nur wurden die sensibilisierten Blutkörperchen vor Zusatz des Komplements abzentrifugiert und in neuer Salzlösung aufgeschüttet, worauf sich ergab, daß das Phänomen sich dennoch zeigte. Zu gleicher Zeit fand ich dann, daß, wenn Komplement einmal zugesetzt war und keine Hämolyse sich zeigte, dennoch aus der über den unaufgelösten Blutkörperchen liegenden Flüssigkeit alles Komplement verschwunden war. Es wird mithin das Komplement von den Blutkörperchen gebunden, und damit ist zu gleicher Zeit nachgewiesen, daß die Gengou-Buxtonsche Ansicht, nach welcher das Komplement durch gelöstes Antigen zusammen mit Antikörpern vom Antigen abgelenkt wird, nicht die richtige ist. Ohne Zweifel ist es möglich, daß auf diese Weise Komplement verankert wird, allein durch die Einrichtung des Experiments waren sämtliche eventuell als Antigen wirkende gelöste Produkte entfernt. Später aber fand ich, daß die hämolytischen Seren, welche am kräftigsten auf die gelösten Antigene präzipitierend wirkten (folglich auf Hämoglobinlösungen oder Serumverdünnungen), am deutlichsten das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen aufweisen. Hiermit war nachgewiesen, daß wenigstens Beziehungen bestehen zwischen präzipitierendem Vermögen und dem Vermögen, das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen herbeizu-

führen. Noch deutlicher wurde das, als ich nachzuweisen imstande war, daß der hämolytische Titer nicht dem präzipitierenden entsprach. Dem entspricht der in Tabelle II angeführte Versuch, aus dem sich ergab, daß die Anzahl hämolytischer Ambozeptoren die Deutlichkeit, mit der das Phänomen sich zeigte, durchaus nicht bestimmte. Später fand ich noch einmal folgendes: Serum A hatte einen hämolytischen Titer von 1 : 2000, Serum SS von 1 : 3000, während SS ein präzipitierendes Vermögen hatte, das nur $^1/_4$ betrug von dem von A, und A das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen bedeutend schärfer und in schwächerer Verdünnung herbeiführte als SS.

Nun war es von großer Bedeutung, zu wissen, ob ein Serum, das dazu bereitet war, ausschließlich ein hohes präzipitierendes Vermögen zu entwickeln, das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen auch aufweisen würde. Es wurden einem Kaninchen in Zwischenräumen von 5 Tagen jedesmal $2^1/_2$ ccm klar abzentrifugiertes Schafserum eingespritzt. Dadurch hatte dieses Kaninchenserum folgende Eigenschaften erhalten:

1. 0,1 ccm verursacht noch eine deutliche Trübung in 5 Minuten in 2 ccm 1000-fach verdünntem Schafserum.

2. Der hämolytische Titer beträgt 1 : 2000.

3. $^1/_2$ ccm macht in 15 Minuten 10 ccm 5-proz. Schafblutkörperchenemulsion völlig unlöslich für Ambozeptor und Komplement (1 : 10). Dabei war es gleich, ob erst ein hämolytisches Serum einwirkte und dann das präzipitierende, oder umgekehrt. Auch war es ganz gleich, ob dieses präzipitierende Serum vor dem Zusatz von Komplement abzentrifugiert wurde oder nicht.

Da kam plötzlich ein anderes Phänomen zu Hilfe, das ich noch nicht kannte und, soviel mir bekannt, noch nie beschrieben wurde (s. Nachtrag). Wenn die Hammelblutkörperchen mit z. B. einer 20-fachen Verdünnung dieses präzipitierenden Serums gemischt und 2 Stunden lang auf 37° gehalten wurden, ergab sich, daß durch kräftiges Schütteln starke, obgleich nicht immer völlige, Hämolyse eintrat, ohne Zusatz von Komplement. Folglich reichte das rein mecha-

nische Moment dazu aus, Hämolyse zu verursachen! Dann versuchte ich festzustellen, ob auch mit den rein hämolytischen Seren dieses Phänomen sich herbeiführen ließ. Das war wirklich der Fall. Für jede Art Serum ist eine andere Verdünnung anzuwenden, um das Phänomen herbeizuführen. Auch hängt die Schärfe, womit es sich zeigt, mit der Natur der Blutkörperchen zusammen. Es kann aber immer herbeigeführt werden, wenn wenig verdünntes (5-proz.) Serum, mit einer gleichen Quantität (5 Proz.) Schafblutkörperchen vermischt, 2 Stunden bei 37° gehalten und schließlich 3 Minuten kräftig mit der Hand geschüttelt wird. Bei genauerer Untersuchung ergab sich, daß das Vermögen eines Serums, dieses Phänomen der spezifischen Sprödigkeit herbeizuführen, zu dessen präzipitierendem Vermögen nahezu im geraden Verhältnis steht (siehe Tabelle IV). Es versteht sich, daß hieraus eine Erklärung abzuleiten wäre. Eine annehmbare Vorstellung läßt sich in folgender Weise gewinnen:

Ein aufgelöstes Antigen wird durch Präzipitin präzipitiert, d. h. von dem flüssigen in den festen Aggregatzustand versetzt. Wenn das nämliche geschieht mit dem Präzipitinogen, das teilweise die Außenseite des roten Blutkörperchens bildet, so wird dieses ebenso in einen festeren Zustand übergehen. Folglich wird die Geschmeidigkeit, die Weichheit dieser Außenseite, welche ermöglicht, daß Blutkörperchen sich durch die engsten Haargefäße unter starker Umformung bewegen oder sich zwischen den Endothelzellen hindurchdringen, verloren gehen. Diese Außenseite wird steif und, solange sie noch dünn ist, auch spröde. Sie wird durch irgendwelche mechanische Gewalt leicht an einer Stelle verwundet werden, wodurch das Hämoglobin austreten wird. Diese Erwägung war Grund für den Namen „Sprödigkeit", und weil eine derartige Einwirkung selbstverständlich nur durch ein spezifisches Antiserum möglich war, glaubte ich dieses Adjektiv dem Namen beilegen zu müssen. Wenn obiger Gedankengang richtig ist, so muß es aber auch möglich sein, daß die Präzipitation der Präzipitinogene, welche die Außenseite bilden helfen, sich so weit erstreckt, daß die Sprödigkeit bedeutend abnimmt und sogar verschwindet.

Tabelle IV.

Ambozeptor „1914“								
Hämolytischer Titer	1 : 1800							
Präzipitierendes Vermögen	0,1 ccm gibt in $1^1/_2$ ccm unverdünntem, 5-fach und 10-fach verdünntem Hammelserum deutliches Präzipitat							
Ambozeptorverdünnung	1 ccm unverdünnt	1 ccm 5mal verdünnt	1 ccm 10mal verdünnt	1 ccm 20mal verdünnt	1 ccm 40mal verdünnt	1 ccm 60mal verdünnt	1 ccm 80mal verdünnt	1 ccm 100mal verdünnt
5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm
Nach 2 Stunden Aufenthalt im Brutschrank bei 37°								
Agglutination	A.A.	A.A.	A.A.	A.A.	A.	a.	a.	a.?
Spezifische Sprödigkeit (3 Minuten stark schütteln, abzentrifugieren)	keine Hämolyse	H.	H.H.	H.	h.	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse
Neisser-Wechsbergs Erscheinung	abwesend	schwach	stark	stark	stark	schwach	abwesend	abwesend
Mikroskopische Veränderungen der Blutkörperchen	eckige Gebilde fast ohne Ausnahme	viele eckige Gebilde	wenige eckige Gebilde	keine eckige Gebilde	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung

Ambozeptor „Gans“								
Hämolytischer Titer	1 : 8000							
Präzipitierendes Vermögen	0,1 ccm gibt in $1^1/_2$ ccm unverdünntem Hammelserum Spur Präzipität, in Verdünnungen nicht							
Ambozeptorverdünnung	1 ccm unverdünnt	1 ccm 5mal verdünnt	1 ccm 10mal verdünnt	1 ccm 20mal verdünnt	1 ccm 40mal verdünnt	1 ccm 60mal verdünnt	1 ccm 80mal verdünnt	1 ccm 100mal verdünnt
5-proz. Hammelblutkörperchenaufschwemmung	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm	1 ccm
Nach 2 Stunden Aufenthalt im Brutschrank bei 37°								
Agglutination	a.	a.	a.	a.	a.	a.	a.	a.?
Spezifische Sprödigkeit (3 Minuten stark schütteln, abzentrifugieren)	keine Hämolyse	keine Hämolyse	H.	h.	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse
Neisser-Wechsbergs Erscheinung	abwesend	abwesend	schwach	stark	schwach	abwesend	abwesend	abwesend
Mikroskopische Veränderungen der Blutkörperchen	eckige Gebilde fast ohne Ausnahme	viele eckige Gebilde	wenige eckige Gebilde	keine eckige Gebilde	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung	keine Veränderung

A.A. = alle Blutkörperchen sind agglutiniert und zu Boden gesunken
a. = wenig Agglutination

H.H. = vollständige Hämolyse
H. = partielle Hämolyse
h. = Spur Hämolyse

Aus den Tabellen ergibt sich, daß dies wirklich der Fall ist. Die stärksten Konzentrationen (unverdünntes Serum) verändern die Blutkörperchen meistenteils nicht in spröde Gebilde, es sei denn, daß das präzipitierende Vermögen gering ist. Erst meinte ich, daß die größere Viskosität des unverdünnten Serums verhinderte, daß die Körperchen, welche damit vorbehandelt waren, durch mechanische Gewalt verwundet würden (wie z. B. Glasperlen in Sirup). Wenn aber das Serum abzentrifugiert und durch Salzlösung ersetzt wurde, so war auch von dem Phänomen der spezifischen Sprödigkeit nicht die Rede.

Ohne irgendwelchen Zweifel ereignet sich etwas mit den Blutkörperchen:

1. Es tritt Agglutination ein.

2. Durch mikroskopische Untersuchung eines ungefärbten Präparates zeigen sich die Blutkörperchen von vollkommener Rundung immer in eckige, viereckige und halbrunde Gebilde verändert, welche gewöhnlich etwas kleiner zu sein schienen als die unveränderten.

Als ich nach Beendigung dieses Experiments mich nach der Meinung von Professor Bordet erkundigte, gab er für meine Auffassung der Konsistenzveränderung einen treffenden Vergleich. Die Geschmeidigkeit der Wand der unveränderten Blutkörperchen verglich er mit der eines sehr dünnen Glasfadens, der auch bei starker Biegung nicht zerbricht. Die Sprödigkeit der veränderten Wand verglich er mit der Konsistenz eines Deckgläschens, und die Unzerbrechlichkeit der am stärksten veränderten mit der des dicken Glases. Es handelte sich nun um die Frage, ob und inwieweit das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen im geraden Verhältnis steht zu dem der spezifischen Sprödigkeit. Hier kommt eine technische Schwierigkeit in Betracht. War es doch, nachdem den sensibilisierten Blutkörperchen Komplement und Salzlösung zugesetzt war, von unbedingter Notwendigkeit, den Inhalt der Röhrchen, wie das üblich ist, gut zu mischen; wenn dies aber nicht mit der größten Vorsicht stattfand, so entstand das Phänomen der spezifischen Sprödigkeit, und die Unlöslichkeit der Blutkörperchen durch Komplement war unmöglich nachzuweisen.

Das Umrühren hat daher durch leises Hin- und Herbewegen zu geschehen. Wenn das Experiment aber technisch

gut ausgeführt wird, so sehen wir, wie es Tabelle IV zeigt, daß überall, wo spezifische Sprödigkeit eintritt, auch das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen wahrnehmbar wird.

Letzteres geht aber gewöhnlich noch weiter, d. h. es wird schon durch schwächere Konzentrationen ausgelöst als ersteres (siehe Tabelle IV). Eine Ausnahme aber macht auch hier wieder das Verhalten jener Blutkörperchen, welche mit unverdünntem Serum behandelt waren, und von denen oben angegeben wurde, daß die Präzipitation sich so weit erstreckt hätte, daß die Oberfläche zu fest geworden wäre, als daß dieselbe noch mechanisch gebrochen werden könnte. Diese waren nämlich ebenso leicht löslich für Komplement wie Blutkörperchen, welche maximal sensibilisiert waren (8—12 Einheiten, siehe Arch. f. Dermatol. u. Syph., Bd. 118, Heft 1). Es war nicht wahrscheinlich, daß das Serum an den Blutkörperchen nichts verändert hätte; denn mikroskopisch sind die Blutkörperchen ebenso verändert, wie durch jene Verdünnungen, welche deutlich Sprödigkeit verursachen. Außerdem waren diese nicht brechbaren, wohl aber löslichen Blutkörperchen stärker agglutiniert, als durch irgendeine Verdünnung. Folglich ist hiermit wirklich auch jede Erklärung aus der Wirkung von Agglutinoiden und Präzipitinoiden zunichte geworden. Wahrscheinlich wird mithin die Veränderung der Oberfläche morphologisch anders sein, als wenn dieselbe durch z. B. 10-fach verdünntes Serum verursacht wird. Es könnte die Wand durch das unverdünnte Serum roher, grober präzipitiert sein, so daß Poren entstehen, wodurch das Hämoglobin leichter austreten könnte. Mikroskopisch konnte ich hiervon selbstverständlich nichts wahrnehmen; folgendes Experiment aber macht es wohl annehmbar, obgleich ich diese Hypothese gern für eine bessere aufgebe.

Blutkörperchen werden behandelt mit unverdünntem hämolytischen „Serum 1914“. Resultat: keine Sprödigkeit. Jetzt werden sie mit 20-fach verdünntem Serum behandelt, nachdem das unverdünnte abzentrifugiert war. Resultat: keine Sprödigkeit. Umgekehrt verfuhr ich, wie folgt: Blutkörperchen wurden mit 20-fach verdünntem Serum behandelt. Resultat: deutliche Sprödigkeit. Nach Abzentrifugierung wurden sie behandelt mit unverdünntem Serum. Resultat:

gleich starke Sprödigkeit. Dieses Experiment zeigt deutlich, daß die Wandveränderung beherrscht wird durch die Serumverdünnung, welche zuerst einwirkte, wenigstens bei den sehr starken Konzentrationen. Folglich ist es möglich, daß diese Wandveränderung morphologisch eine andere ist, je nach der Serumverdünnung, welche einwirkte.

Wenn nun die obige Erklärung des Neisser- und Wechsbergschen Phänomens und des der spezifischen Sprödigkeit richtig ist, so dürften die hier mitgeteilten Erfahrungen für die Theorie sowie für die Praxis der Serologie von Bedeutung sein.

Zunächst spricht dann das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen nicht für die von Neissser und Wechsberg gegebene Auffassung nach Ehrlich (Ambozeptorentheorie), vielmehr für die von Bordet (Theorie der substance sensibilisatrice). Das Phänomen der spezifischen Sprödigkeit beweist ja, daß mit diesen Blutkörperchen selbst, im chemischen Sinne, etwas während des Aufenthalts im Immunserum vor sich ging. Es is aber nicht zu vergessen, daß die Sensibilisierung selbst mit beiden Phänomen augenscheinlich nichts zu tun hat, daß es vielmehr die präzipitierende Funktion des hämolytischen Serums ist, welche dieselben verursacht. An zweiter Stelle können wir uns eine Vorstellung machen von der Ursache der Immobilisation beweglicher Bakterien durch deren Antisera, wenigstens wenn wir das oben für hämolytische Seren Beschriebene auch für antibakterielle Seren gelten lassen dürfen, was übrigens wahrscheinlich ist. Es wird ja das präzipitierende Vermögen der Oberfläche der Bakterien und folglich auch der von deren Geißeln die Geschmeidigkeit nehmen, welche für deren heftige Beweglichkeit erforderlich ist, aus der notwendig die Immobilisation hervorgeht.

An dritter Stelle ergibt sich, daß die Sensibilisation und die Präzipitation nicht Aeußerungen der nämlichen Wirkung, sondern besondere Funktionen sind, auch wenn dieselben mit der nämlichen Materie verbunden wären.

Praktisch kann das Phänomen der spezifischen Sprödigkeit vielleicht von Bedeutung werden beim Suchen nach präzipitierender Wirkung. Es ergibt sich nämlich, daß dieses

Phänomen durch Konzentrationen des Immunserums hervorgerufen wird, welche schwächer als diejenigen sind, womit in der Regel präzipitierende Wirkung nachgewiesen wird.

Auch für die Praxis der Komplementbindungsreaktionen ist dieses Experiment von Bedeutung. Bekannt ist, daß eine bedeutende Anzahl menschlicher Seren agglutinierend auf tierische Blutkörperchen einwirkt. Die Möglichkeit, daß präzipitierende Wirkung bestehe, ist folglich entschieden nicht ausgeschlossen. Wenn wir nun (wie ich es bei der Σ-I-Bestimmung tue) ziemlich viel hämolytisches Serum verwenden, so besteht die Möglichkeit, daß dessen präzipitierende Wirkung durch die des zu untersuchenden menschlichen Serums verstärkt wird, und daß dies die Unlöslichkeit der Blutkörperchen für die zuvor als die richtige bestimmte Komplementverdünnung zur Folge hat. Bei Komplementbindungsversuchen haben wir folglich hämolytische Seren mit hohem hämolytischen Titer und schwachem präzipitierenden Vermögen zu verwenden. Diese Seren bei Kaninchen zu bereiten, ist oft sehr schwer, und manchmal gelingt die Bereitung scheinbar nur zufälligerweise. Mir gelang es in den letzten Jahren nur selten. Auch die verschiedenen Handelsseren erweisen sich im Gebrauch oft als untauglich. Das Serum „Gans" aus Tabelle IV bezog ich von der Firma L. W. Gans (Ober-Ursel a. T.); nach meinem Dafürhalten ist dieses das beste Serum, das ich je verwendete. Besagte Firma schrieb mir, auf welche Weise es ihr oft gelinge, dieses Serum zu erhalten; selbstverständlich ging mir die Mitteilung nur zu unter der Bedingung, dieselbe nicht zu veröffentlichen. Es besteht überhaupt kein hämolytisches Serum, das auch nicht zu gleicher Zeit präzipitierend wäre. Zusammen mit dem oben Angegebenen geht hieraus hervor, daß wir für unsere Komplementbindungsversuche für die Sensibilisation der Blutkörperchen Verdünnungen anzuwenden haben, desjenigen Grades, der dieselben maximal empfindlich macht zum Komplement und folglich so wenig, wie nur immer möglich, präzipitierend wirkt. Diesen Grad der Verdünnung habe ich früher empirisch festgestellt auf 8—12 Einheiten, und wirklich ergibt sich, daß ungefähr diese Stärke die Blutkörperchen für das Minimum Komplement empfindlich macht,

und daß folglich das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen nicht wahrnehmbar ist. Eine größere Stärke vermindert nicht die zur Hämolyse erforderliche Quantität Komplement, vermehrt aber die Möglichkeit der Präzipitation der Oberfläche und folglich eine geringere Löslichkeit. Dadurch wird es denn auch möglich, die als Minimum erforderliche Quantität Komplement scharf und genau zu bestimmen (der sogenannte Vorversuch der Σ-I-Bestimmung). Durch Anwendung der richtigen Quantität Ambozeptoren, d. h. durch maximale Sensibilisation mit einem schwach präzipitierenden und stark sensibilisierenden hämolytischen Serum zeigt sich in besagtem Vorversuch peinlich genau die Grenze zwischen Lösung und Hemmung der Hämolyse. Wir sehen z. B., daß 0,04 Komplement totale Hämolyse erzeugt und 0,03 nicht die geringste Hämolyse herbeiführt. Die Quantität 0,04 ist folglich für den dann folgenden Komplementbindungsversuch die geeignete, mit anderen Worten, läßt nach der geringsten spezifischen Bindung kein Komplement zurück und reicht eben für die Hämolyse hin, wenn spezifische Bindung ausbleibt.

Nur in einer Weise können wir den Präzipitingehalt der hämolytischen Seren praktisch benutzen. Es kommt häufig vor, daß die vom Schlachthaus erhaltenen Blutkörperchen, wenn sie mit einer 0,85-proz. starken Salzlösung gewaschen werden, Hämoglobin abgeben, so daß jede neu hinzugefügte Quantität nach der Abzentrifugierung sich als rot gefärbt erweist. Bisweilen hört dies nicht von selbst auf, wird dagegen immer stärker. Wenn wir dann z. B. nach der 3. Waschung die für die Sensibilisation erforderliche Quantität Ambozeptor hinzusetzen, hört sogleich das Abgeben von Hämoglobin auf. Wenn nach der Sensibilisation zentrifugiert wird, so erhalten wir über den Blutkörperchen eine farblose klare Salzlösung. Ich kann mir dieses Phänomen nur als Folge einer Verstärkung der Außenfläche („Wand“, wenn man will) denken, was eine geringere Durchlässigkeit für Hämoglobin zur Folge hat. Jedenfalls ist nach meinem Dafürhalten diese Erklärung annehmbar.

Zusammenfassung.

1) Das Neisser- und Wechsbergsche Phänomen läßt sich mit hämolytischen Immunseren nachweisen.

2) Es beruht nicht auf einer Wirkung des Immunserums auf das Komplement, wie die Entdecker meinten. Auch die Erklärungen von Gruber, Metschnikoff, Levaditi, Gay, Buxton und Müller sind unrichtig.

3) Es beruht auf einer präzipitierenden Wirkung der Immunseren auf die Oberfläche der Antigene; es hat diese eine Verminderung der Löslichkeit zur Folge.

4) Eine andere Folge dieser Wirkung ist das Phänomen der spezifischen Sprödigkeit (Fragilitas specifica), das oben beschrieben wurde, für rote Blutkörperchen.

5) Für Komplementbindungsreaktionen ist der Gebrauch stark hämolytischer Seren mit schwach präzipitierendem Vermögen unbedingt erwünscht, zumal wenn der Versuch mit stark sensibilisierten Blutkörperchen angestellt wird.

6) Immobilisation beweglicher Bakterien durch agglutinierende Seren ist wahrscheinlich die Folge von Präzipitation und dadurch verursachter Erstarrung der Oberfläche der Geißeln.

Nachtrag.

Nachdem ich den vorliegenden Artikel der Redaktion dieser Zeitschrift übergeben hatte, fand ich in der Festschrift zum 60. Geburtstag Ehrlichs (auf p. 207 unten) eine Erscheinung beschrieben, die vielleicht analog dem Phänomen der spezifischen Sprödigkeit ist. H. Ritz schreibt dort: „Er (Ehrlich) weist darauf hin, daß in den durch Ricin agglutinierten Haufen die Bedingungen für eine Diffusion des Hämoglobins ungünstig sind, und daß dementsprechend erst durch starkes Schütteln Hämolyse bewirkt wird.“

Weiter fand ich in der Arbeit von Amiradžibi und Bächer (diese Zeitschr., Bd. 6) das Neisser-Wechsbergsche Phänomen bei der Hämolyse beschrieben. Sie schreiben die Erscheinung dem gestörten Quantitätsverhältnis von Ambozeptor und Komplement zu. Nach Abzentrifugierung der ambozeptorhaltigen Flüssigkeit sind die Blutkörperchen wieder löslich in Komplement. Ich wies schon darauf hin, daß hier die Sprödigkeit schwierig von Hämolyse zu unterscheiden ist.

Prof. Hans Sachs war so liebenswürdig, mich aufmerksam zu machen auf folgende Arbeiten: Bail und Su-

zuki (diese Zeitschr., Bd. 9). Die beiden Autoren beschreiben die Erscheinung der Lösung von stark sensibilisierten Blutkörperchen. Sie meinen, daß der Grund dafür gesucht werden muß in dem Zustandekommen der Verbindung aus der Blutkörperchensubstanz und dem stofflichen Substrate des Serumimmunkörpers, was bei Anwendung weniger stark sensibilisierender Ambozeptorlösungen nur mit Hilfe eines Katalysators, des Komplementes, stattfinden würde. Diese neue Verbindung macht das Erhaltenbleiben der Zelle unmöglich, und es tritt Hämolyse auf.

Liebermann und Fenyvessy scheinen die Erscheinung als erste gefunden zu haben. In dieser Zeitschrift (Bd. 10) beschreiben sie dieselbe wenigstens als schon „vor Jahren“ erwähnt. Sie schließen unter anderem hieraus, daß die Sensibilisierung mit einer Schädigung der Blutkörperchen einhergeht.

Literatur.

1) Neisser, Max, und Wechsberg, Fr., Münch. med. Wochenschr., 1901, No. 18, p. 697 ff.
2) Müller, Paul Th., Vorlesungen über Infektion und Immunität.
3) Gruber, Offizielles Protokoll der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien, Wiener klin. Wochenschr., 1901, p. 1247 ff.
4) Wechsberg, Wiener klin. Wochenschr., 1901, p. 1273 ff.
5) — ebenda, 1902, p. 337 ff.
6) — ebenda, 1902, p. 720 ff.
7) Metschnikoff, L'immunité dans les maladies infectieuses, 1901, p. 312—314.
8) Lipstein, Centralbl. f. Bakt. etc., Bd. 31, 1902, p. 460 ff.
9) Levaditi, M., Comptes rendus hebdomadaires des séances et mémoires de la Société de Biologie, 1902, p. 971 u. 973.
10) Gay, Annales de l'Institut Pasteur, T. 19, 1905.
11) — Centralbl. f. Bakt. etc., Bd. 39, 1905.
12) Bordet, H., and Gay, Studies in immunity, 1909.
13) Gengou, Annales de l'Institut Pasteur, 1902.
14) Morgenroth, Centralbl. f. Bakt. etc., Abt. 1, Orig., Bd. 35.
15) Sachs, Lubarsch und Ostertags Ergebnisse der allgemeinen Pathologie und pathologischen Anatomie des Menschen und der Tiere, Jahrg. 11, 1906, 1. Abt.
16) Sormani, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Ther., Bd. 11, Heft 2.
17) — Arch. f. Dermatol. u. Syph., Bd. 118, 1913, Heft 1.
18) — Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 2.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Deutschen Medizinschule in Schanghai (Leiter: Privatdozent Dr. Dold).]

Die Kachexie nach parenteraler Einverleibung von arteigenem Organeiweiß.

Von **H. Dold.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 13. Mai 1915.)

Das Studium der wässerigen Organextrakte hat, wie an anderer Stelle (1) des näheren von mir ausgeführt worden ist, im wesentlichen folgende Ergebnisse gezeitigt: Es lassen sich — mit Ausnahme des Knochenmarks, der Blutzellen, der Linse und des Glaskörpers — aus allen Organgeweben durch einfache wässerige Extraktion Stoffe extrahieren, welche eine große Giftigkeit für heterologe und homologe Tiere besitzen [Dold (2), Bianchi (3), Roger (4) u. a.]. Diese Organextraktgifte besitzen verschiedene Giftwirkungen: intravenös eingespritzt, erzeugen sie intravitale Gerinnsel [Dold und Ogata (5)], parenteral einverleibt, bewirken sie Kachexie [Dold (6)] und Leukocytose bzw. Entzündung [Dold und Rados (7)].

Die Kachexie erzeugende Wirkung der Organextrakte wurde von mir zum ersten Male beobachtet gelegentlich von Versuchen (6), Kaninchen gegen ihre eigenen Organgifte zu immunisieren. Die Tiere, welche homologe Organextrakte in untertödlichen Dosen ungefähr jeden dritten Tag intravenös injiziert bekamen, zeigten bald Abnahme der Freßlust, allgemeine Schwäche, Abmagerung.

Später haben Schittenhelm und Weichardt (8) nach parenteraler Einverleibung von verschiedenen Eiweißkörpern (Kerneiweißkörper, zur Gruppe der Hämoglobine und Kyrine gehörige Eiweißkörper) das Auftreten kachektischer Zustände beobachtet und diese Erscheinung proteinogene Kachexie genannt.

Offenbar handelt es sich in beiden Fällen um dieselben Vorgänge, nämlich um giftige Wirkungen von Eiweiß und Eiweißabbauprodukten.

Diese nach mehrmaliger parenteraler Einverleibung von arteigenem Organeiweiß beobachtete Gewichtsabnahme schien mir interessant genug, um eine Wiederholung der früheren Versuche zu rechtfertigen. Außerdem lag mir daran, etwaige *Besonderheiten im histologischen Bilde* der Organe der so experimentell kachektisch gemachten Tiere kennen zu lernen.

Die Versuche wurden an *Kaninchen* und *Meerschweinchen* ausgeführt, zur histologischen Prüfung kamen nur die Meerschweinchenorgane.

Versuche an Kaninchen.

4 ziemlich große, ausgewachsene Kaninchen wurden ausgewählt und in gleichmäßiger Weise gefüttert. Jeden Tag wurde zur selben Zeit, 4 Stunden nach Verabreichung des Futters, das Gewicht der Tiere bestimmt. Am 6. Tage nach Beginn des Versuches wurde mit den Injektionen von kleinen Dosen von sterilem Kaninchenorganextrakt begonnen. Die Injektionen wurden *täglich* einmal zur selben Zeit ausgeführt. Verwendet wurde ein steril hergestellter Extrakt aus Kaninchenlunge plus Kaninchenherz; die einzelne Injektionsdosis betrug $^1/_5$ der Dosis letalis. Die Injektion erfolgte intravenös.

Tabelle I.

	Datum	Kaninchen 1 Gewicht in g	Kaninchen 2 Gewicht in g	Kaninchen 3 Gewicht in g	Kaninchen 4 Gewicht in g
	7. II.	2425	3110	3150	3225
	8. II.	2430	3100	3130	3230
	9. II.	2440	3105	3140	3230
	10. II.	2420	3115	3125	3220
	11. II.	2425	3105	3145	3230
Beginn der Organextraktinjektionen	12. II.	2395	2990	3070	3180
	13. II.	2380	2990	2960	3135
	14. II.	2350	2970	2910	3090
	15. II.	2315	2955	2870	3020
	16. II.	2280	2940	2840	3000
	17. II.	2270	2910	2815	2910
	18. II.	2290	2860	2820	2850
	19. II.	2260	2805	2790	2780
	20. II.	2245	2760	2740	2700
	21. II.	2210	2770	2700	2680
	22. II.	2210	2750	2690	2650
	23. II.	2180	2730	2680	
	24. II.	2155	2740	2680	
	25. II.	2130	2730	2660	
	26. II.			2650	

Wie die Tabelle I zeigt, war das Gewicht der Tiere vor der Einverleibung der Organextrakte, abgesehen von kleineren Schwankungen, konstant, aber schon 1—2 Tage nach Beginn der Injektionen setzte eine stetige, wenn auch nicht gleichmäßige, Gewichtsabnahme ein, so daß das Tier 1 nach 14 Tagen (= 14 Injektionen) um 12,2 Proz., Tier 2 nach derselben Zeit um 12,2 Proz., Tier 3 nach 15 Tagen um 15,9 Proz., Tier 4 nach 11 Tagen um 17,8 Proz. abgenommen hatte.

Versuche an Meerschweinchen.

In gleicher Weise wurden die Versuche an 8 Meerschweinchen ausgeführt, wovon 5 die eigentlichen Versuchstiere, 3 die Kontrollen waren.

Die Kontrollen wurden in genau derselben Weise gefüttert und bis zum Schluß der Versuche regelmäßig, wie die Versuchstiere, gewogen. Sie behielten, wie die Tabelle II lehrt, während der ganzen Versuchsdauer, abgesehen von kleineren Schwankungen, annähernd ihr Anfangsgewicht.

Tabelle II.

Datum	Meerschweinchen 10 Gewicht in g	Meerschweinchen 11 Gewicht in g	Meerschweinchen 12 Gewicht in g
1. I.	550	490	470
2. I.	555	495	480
3. I.	565	510	500
4. I.	550	515	505
5. I.	570	510	500
6. I.	565	500	495
7. I.	565	490	495
8. I.	570	490	480
9. I.	575	495	500
10. I.	565	500	495
11. I.	565	505	490
12. I.	565	495	500
13. I.	560	490	500
14. I.	555	485	495
15. I.	560	485	495
16. I.	565	485	495
17. I.	555	490	490
18. I.	550	490	495
19. I.	555	495	490
20. I.	555	490	480
21. I.	560	490	480
22. I.	560	495	475
23. I.	560	500	480

Datum	Meerschweinchen 10 Gewicht in g	Meerschweinchen 11 Gewicht in g	Meerschweinchen 11 Gewicht in g
24. I.	555	500	485
25. I.	560	505	480
26. I.	560	500	480
27. I.	550	500	490
28. I.	555	490	480
29. I.	560	495	485
30. I.	570	495	480
31. I.	560	505	495
1. II.	560	510	490
2. II.	565	505	490
3. II.	560	500	485
4. II.	560	505	490
5. II.	560	500	490
	Tier getötet	Tier getötet	Tier getötet

Die Versuchstiere dagegen zeigen nach der anfänglichen ungefähren Gewichtskonstanz vom Tage der ersten Injektion von Kaninchenorganextrakt an ein Sinken des Körpergewichtes, das zwar vorübergehende Remissionen aufwies, aber im ganzen ein stetiges war.

Nach 31 Injektionen, also nach 31 Tagen, hatte Meerschweinchen 5 19,3 Proz. seines ursprünglichen Gewichtes, Meerschweinchen 6 18,9 Proz., Meerschweinchen 7 23,5 Proz., Meerschweinchen 8 18,8 Proz., Meerschweinchen 9 18,5 Proz. verloren (cfr. Tabelle III).

Tabelle III.

	Datum	Meerschw. 5 Gew. in g	Meerschw. 6 Gew. in g	Meerschw. 7 Gew. in g	Meerschw. 8 Gew. in g	Meerschw. 9 Gew. in g
	1. I.	477	580	490	425	485
	2. I.	480	580	500	425	490
	3. I.	485	585	495	435	500
	4. I.	483	590	500	430	495
	5. I.	485	590	500	440	500
Beginn der Organextraktinjektionen	6. I.	475	570	485	440	490
	7. I.	470	555	480	435	490
	8. I.	450	560	470	430	480
	9. I.	440	535	460	410	450
	10. I.	435	530	465	415	455
	11. I.	440	540	445	395	465
	12. I.	420	545	440	390	450
	13. I.	425	520	455	400	425
	14. I.	410	525	430	400	435

Datum	Meerschw. 5 Gew. in g	Meerschw. 6 Gew. in g	Meerschw. 7 Gew. in g	Meerschw. 8 Gew. in g	Meerschw. 9 Gew. in g
15. I.	395	515	415	395	435
16. I.	405	510	425	390	420
17. I.	410	515	430	380	415
18. I.	405	510	420	375	405
19. I.	405	495	400	375	415
20. I.	410	480	430	370	400
21. I.	400	485	425	380	415
22. I.	400	480	400	370	410
23. I.	410	485	420	365	415
24. I.	415	500	415	350	415
25. I.	405	480	410	360	425
26. I.	405	475	410	350	410
27. I.	400	465	425	355	425
28. I.	395	475	415	345	420
29. I.	380	490	395	†	415
30. I.	400	490	400		400
31. I.	390	500	400		405
1. II.	400	490	410		400
2. II.	385	470	395		400
3. II.	390	475	380		405
4. II.	390	470	390		395
5. II.	385	470	375		395
	Tier getötet	Tier getötet	Tier getötet		Tier getötet

Die Injektionen erfolgten subkutan. Als Injektionsdosis diente $^1/_5$ der Dosis letalis eines sterilen Extraktes aus Meerschweinchenlunge plus -herz.

Die von Privatdozent Dr. Fischer ausgeführte histologische Untersuchung der Organe ergab in allen Fällen übereinstimmend folgenden Befund:

„In der Milz fand sich Blutpigment, und zwar Hämosiderin in sehr erheblicher Menge. In einigen Fällen waren geringe Mengen von Hämosiderin auch in den kleinen Lymphknoten der Inguinalgegend nachzuweisen.

In der Leber fanden sich regelmäßig in manchen Kapillarendothelzellen geringe Mengen von Hämosiderin.

Im übrigen zeigten alle untersuchten Organe (Herzmuskel, Zwerchfell, Lunge, Nieren, Hoden, Leber, Milz etc.) durchaus normale histologische Verhältnisse.

In der Umgebung der Injektionsstellen (Bauchhaut) waren stets Zeichen von Entzündung akuter oder subakuter Natur; bisweilen fanden sich auch Fremdkörperriesenzellen um Trümmer des injizierten Materials herum. Irgendwelche Be-

sonderheiten des Entzündungsprozesses waren histologisch nicht festzustellen.“

Wir haben also histologisch das Bild einer rasch sich entwickelnden Atrophie mit Auftreten von Blutpigment als Ausdruck für einen abnorm gesteigerten Zerfall von roten Blutkörperchen, wie man das auch bei anderen, insbesondere toxischen Atrophien beobachtet. Die Entzündungsherde, welche um die Injektionsstellen herum sich vorfanden, erklären sich durch die schon früher von uns (7) nachgewiesene stark entzündungserregende (leukotaktische) Wirkung der Organextrakte.

Zusammenfassung.

In Bestätigung früherer Versuche konnte festgestellt werden, daß die wiederholte parenterale Einverleibung von sterilem arteigenem Organeiweiß (in Form von wässerigen Organextrakten) bei Kaninchen und Meerschweinchen beträchtliche Gewichtsverluste zur Folge hat.

Die Gewichtsverluste betrugen bei Kaninchen (in 11 bis 14 Tagen) ca. 12—18 Proz., bei Meerschweinchen (in 31 Tagen) ca. 18—24 Proz. des ursprünglichen Körpergewichtes.

Die Organe zeigten histologisch das Bild einer einfachen Atrophie. In Milz, Leber und zum Teil in den Inguinallymphdrüsen fand sich Hämosiderin abgelagert. In der Umgebung der Injektionsstelle fanden sich Entzündungsherde akuten und subakuten Charakters (als Ausdruck der leukotaktischen Wirkung der Organextrakte).

Shanghai, 1. April 1915.

Literatur.

1) Dold, Arb. a. d. Geb. d. pathol. Anat. u. Bakt. a. d. Pathol. Institut Tübingen, Bd. 9, p. 30 ff. (Festschrift für v. Baumgarten.)
2) — Zeitschr. f. Immunitätsf. etc., Bd. 10, 1911, Heft 1/2. — Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 36; 1912, No. 49.
3) Bianchi, Pathologica, T. 3, 15. April, 15. Mai, 1. Juni.
4) Roger, Presse méd., 1911, Sept.
5) Dold und Ogata, Zeitschr. f. Immunitätsf. etc., 1912.
6) Dold, Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 36.
7) — und Rados, Deutsche med. Wochenschr., 1913, No. 31, und Zeitschrift f. experim. Med., Bd. 2, 1913.
8) Schittenhelm und Weichardt, Zeitschr. f. Immunitätsf. etc., Bd. 4, 1912, Heft 6.

[Aus dem serologischen Laboratorium der Psychiatrischen Universitätsklinik in München.]

Ueber den Mechanismus der Abbauvorgänge bei dem Abderhaldenschen Dialysierverfahren.

Von Professor **F. Plaut.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Mai 1915.)

Von allen Untersuchern, die mit dem Abderhaldenschen Dialysierverfahren gearbeitet haben, ist die Tatsache bestätigt worden, daß die Digestion von Organstückchen mit aktivem Serum im Dialysierschlauch während 16 Stunden bei 37° zu einer gesteigerten Produktion von dialysablen Abbaustoffen führen kann.

Die Ansichten über die Erklärung der Erscheinung gehen jedoch auseinander, und zwar sowohl bezüglich des abbauenden Faktors als auch bezüglich des Substrates, das dem Abbau verfällt.

Der Abbau wird nach Abderhalden durch spezifisch eingestellte Serumfermente, sogenannte Abwehrfermente, herbeigeführt; andere Forscher folgen der Anschauung Abderhaldens, jedoch unter Einschränkung oder auch völliger Bestreitung der Spezifizität der Fermente; eine weitere Erklärungsweise sieht den Abbau als Folge der Einwirkung jener Serumbestandteile an, die man als Komplemente bezeichnet, Substanzen, die dadurch ausgezeichnet sind, daß sie das Angriffsobjekt durch Vermittelung spezifischer Antikörper angehen [Steising (1), Stephan (2), Hauptmann (3)]; schließlich ist auch der proteolytische Einfluß von Bakterien als wesentlicher Faktor für die Bildung von Abbaustoffen bei dem Dialysierverfahren in Anspruch genommen worden (C. Lange). Gewiß ist ebensowohl mit der Kombination der verschiedenen genannten Einflüsse zu rechnen.

Zu der Unsicherheit, in der man sich bezüglich der abbauenden Komponente befindet, gesellen sich noch Zweifel über das, was abgebaut wird. Sind nur die Organstückchen

als Quelle der Abbaustoffe anzusehen oder nur Serumeiweißkörper, oder werden dialysable Spaltprodukte von beiden Substraten geliefert?

Nach der Lehre Abderhaldens kommt ausschließlich ein Abbau der Organstückchen, und zwar durch die Wirkung von Serumfermenten, in Betracht. Das Organsubstrat stellt nach dieser Auffassung lediglich ein Abbauobjekt für das Serum dar und spielt im übrigen eine indifferente Rolle.

Die Vorgänge erscheinen nun wesentlich komplizierter, sobald man den Serumfermenten die Fähigkeit zubilligt, neben dem Organeiweiß auch Serumeiweiß abzubauen. Abderhalden meint, das aktive Serum baue sich selbst nicht ab; daß diese Auffassung nicht haltbar ist, wurde unter anderen auch von C. Lange (4) betont, der darauf hinwies, man könne durch Bestimmung des Reststickstoffes vor und nach 16-stündiger, möglichst steriler Bebrütung bei 37^0 Abbauvorgänge im aktiven Serum exakt nachweisen.

Nimmt man aber Abbauvorgänge im Serum selbst an, so erscheint es berechtigt, die Frage aufzuwerfen, ob die in das Serum eingeführten Organstückchen imstande sind, auf solche Abbauvorgänge einzuwirken.

Ich habe in einer früheren Arbeit (5) mitgeteilt, daß das Vorhandensein von anorganischen korpuskulären Substraten (Kaolin, Bariumsulfat, Talkum, Kieselgur) im aktiven Serum zu einer Vermehrung der Abbaustoffe im Dialysat führen kann. Die Rolle der genannten, nicht-abbaufähigen Kolloide konnte nur so aufgefaßt werden, daß sie durch Adsorption die Autolyse des Serums im Sinne einer Steigerung des Abbauvorganges beeinflussen.

Friedemann und Schönfeld (6), Hauptmann (7), De Waele (8) sind — zum Teil unter Modifizierung der von mir angewandten Versuchsanordnung — zu entsprechenden Anschauungen gelangt.

Die Beobachtungen stehen in enger Beziehung zu den in den letzten Jahren sehr geförderten Anschauungen über die vielgestaltige Bedeutung physikalischer Einflüsse auf die Funktionen des Serums.

Sie nahmen ihren Ausgang von den Erklärungsversuchen für das Phänomen der Giftung — Anaphylatoxinbildung — der Sera (Friede-

mann, Friedberger) bei deren Digestion mit Präzipitaten, Bakterien, anorganischen korpuskulären Elementen in vitro. Damals tauchte zuerst die Vorstellung auf, daß physikalische Wirkungen seitens korpuskulärer Elemente Vorgänge im Serum auslösen könnten, die zur Bildung giftiger Substanzen aus Serumbestandteilen führen. Die Bedingung für die Einwirkung der korpuskulären Elemente wurde in ihrer Adsorptionswirkung auf Serumbestandteile gesehen.

Ueber den Mechanismus der Giftbildung aus dieser Einwirkung ist bisher keine völlige Klärung erzielt worden. M. Wassermann und Keysser (9) vertraten auf Grund von Kaolinbindungsversuchen die Anschauung, daß Ambozeptoren adsorbiert und hierdurch der Komplementwirkung zugänglich gemacht wurden; das Anaphylatoxin wurde als giftiges Abbauprodukt des Ambozeptors aufgefaßt. Ritz und Sachs (10), die gleichfalls die Anaphylatoxinentstehung als Adsorptionsphänomen auffaßten und in das Serum verlegten, äußerten sich sehr vorsichtig über die hierbei spielenden Mechanismen. Sie ließen es dahingestellt, ob das giftige Prinzip im Serum präformiert ist und lediglich durch physikalische Adsorption antagonistischer Substanzen manifest wird, oder ob die Adsorption autolytisch-fermentative Wirkungen im Serum auslöst.

Die Berechtigung der Annahme solcher physikalischer Momente ist durch zahlreiche Arbeiten der letzten Jahre gestützt worden (Doerr, Bauer, Bordet, Hirschfeld und Klinger, Nathan, Nathan und Sachs). Besonders überzeugend für die entscheidende Rolle, welche der physikalische Zustand der auf das Serum wirkenden Substanzen für das Auftreten giftiger Produkte spielt, erscheinen die Feststellungen von Nathan (11) bzw. von Nathan und Sachs (12) bei ihren Versuchen mit Stärke und Inulin. Die Abhängigkeit der Giftbildung von dem physikalischen Zustand dieser Substanzen — Suspension, gelatinöse Form, Lösung — trat sehr markant hervor.

Die Digestion korpuskulärer Elemente mit aktivem Serum führt also einerseits zum Auftreten giftiger Produkte (Anaphylatoxinbildung im Reagenzglas), andererseits zur Vermehrung dialysabler Abbaustoffe (Auftreten positiver Ninhydrinreaktion beim Abderhaldenschen Dialysierverfahren).

Die Möglichkeit, daß das Auftreten beider Phänomene auf identischen oder wenigstens nahe verwandten Mechanismen beruhen kann, habe ich früher ausführlich erörtert.

Es sei erwähnt, daß auch Nathan und Sachs neuerdings geneigt sind, ihre Anaphylatoxindefinition den Vorgängen bei dem Abderhaldenschen Dialysierverfahren anzupassen.

„Es würde sich also auf Grund einer derartigen Auffassung bei der Abderhaldenschen Reaktion um eine Präformation dialysabler Eiweißabbauprodukte oder um eine

Präformation fermentativer Funktionen handeln, für deren Manifestwerden man physikalische Einflüsse verantwortlich machen könnte[1]).“

Hirschfeld und Klinger (13) denken daran, daß die von mir und von Friedemann beim Dialysierverfahren beobachteten physikalisch bedingten Abbauvorgänge an Fällung von Globulinen geknüpft sind, worauf diese Autoren bekanntlich die Mehrzahl der zur Komplementbindung führenden Reaktionen beruhend ansehen.

Bei dem Abderhaldenschen Dialysierverfahren läßt sich das Plus von Abbaustoffen, das durch die genannten physikalischen Einwirkungen im Serum entsteht bzw. manifest wird, mittels der Ninhydrinprobe im Dialysat nachweisen. Es liegt auf der Hand, von wie großer Wichtigkeit es daher ist, solche Einflüsse ausschließen zu können, wenn man den Abbau des Organsubstrates als die alleinige Ursache für die positive Ninhydrinreaktion des Dialysats ansprechen will.

Nachdem der Nachweis geführt war, daß eine Reihe von nicht abbaufähigen Suspensionskolloiden das aktive Serum zu Abbauvorgängen anregt, mußte man versuchen zu erforschen, ob sich Analogien zwischen anorganischen Substanzen und Organstückchen hinsichtlich ihrer Einwirkung auf sie umgebende eiweißhaltige Flüssigkeiten auffinden ließen.

Nachstehend sei über derartige Untersuchungen berichtet.

Die nach den Vorschriften Abderhaldens zubereiteten Organstückchen haben die Fähigkeit, rote Blutkörperchen aufzulösen.

Tabelle I.

Die Organsubstrate, nach den Abderhaldenschen Vorschriften behandelt, waren seit längerer Zeit in Benützung.

Die Organstückchen wurden am Versuchstage mehrfach in NaCl-Lösung gespült und nicht nochmals gekocht.

---

1) Wie mir Herr Prof. Sachs mitteilte, wurde bereits im Jahre 1913 in einer Arbeit von Nathan (diese Zeitschr., Bd. 18, p. 649) auf derartige Möglichkeiten hingewiesen. Es handelte sich jedoch, wie auch Herr Sachs betont, damals um eine rein theoretische Formulierung. Die Notiz entging mir, wie offenbar auch den anderen Autoren, die das Problem experimentell in Angriff nahmen, wohl aus dem Grunde, weil sie in Form eines kurzen Hinweises in einer Fußnote gegeben war.

Die Menge des dem einzelnen Glase beigefügten Organsubstrates entsprach der üblichen Dialysierdosis.

Zusatz von je 2 ccm 1-proz. Hammelblutemulsion.

Organ	Hämolyse	
	nach 4 Stunden im Brutschrank	nach weiteren 18 Stunden Zimmertemperatur
Hoden I (Mensch)	fast völlig	fast völlig
Hoden II („)	völlig	völlig
Ovarien („)	mäßig	mittelstark
Gehirn („)	fast völlig	völlig
Schilddrüse („)	„ „	„
Leber („)	„ „	„
Pankreas („)	„ „	„
Aorta („)	völlig	„
Hoden (Hammel)	fast völlig	„
Ovarien (Schaf)	„ „	„
Mesenterialdrüsen (Schaf)	stark	„

Der Versuch zeigt, daß sämtliche geprüfte menschliche Organe die Fähigkeit haben, Hammelblutkörpercher aufzulösen; es bestehen hinsichtlich der Intensität der Wirkung gewisse Unterschiede.

Weiterhin geht aus dem Versuche hervor, daß Hammelblut auch von Organen des Hammels hämolysiert wird, daß somit auch Blutkörperchen der zugehörigen Art nicht geschützt sind.

Aus der Tabelle II ergibt sich noch deutlicher das völlige Fehlen der Spezifizität der hämolytischen Vorgänge.

Tabelle II.

Versuchsanordnung wie in Tabelle I.

Resultat abgelesen nach 2 Stunden Brutschrank und 20 Stunden Zimmertemperatur.

Organe (Mensch)	Hämolyse			
	Menschenblut	Hammelblut	Schweineblut	Rinderblut
Leber	völlig	völlig	völlig	völlig
Aorta	„	„	„	„
Pankreas	„	„	„	„
Schilddrüse	„	„	„	„

Es zeigt sich, daß menschliche Organe Blutkörperchen des Menschen und verschiedener Tiere in intensiver Weise zu lösen vermögen. Die Ausdehnung der Untersuchung auf weitere Kombinationen gab regelmäßig das gleiche Resultat.

Die Beobachtungen lassen sich also dahin formulieren: Nach Abderhalden zubereitete Organbestandteile lösen Blutkörperchen der eigenen Art und fremder Arten.

Gewöhnlich beobachtet man nach 2-stündigem Verweilen der Gläser im Brutschrank beim Aufschütteln bereits eine ziemlich weit vorgeschrittene Hämolyse. Nach dem Stehen der Gläser bei Zimmertemperatur bis zum nächsten Tage ist die Hämolyse im allgemeinen vollendet. Die Blutkörperchen müssen sorgfältig — 3—4mal — mit Kochsalzlösung gewaschen werden.

Die Resistenz der Blutkörperchen verschiedener Individuen der gleichen Art zeigt Unterschiede. Bei der Verwendung von Hammelblut — dies wurde bei den weiteren Versuchen ausschließlich benützt — ist stets mit Schwankungen der Resistenz zu rechnen. Es ist deshalb bei Versuchen, in denen quantitative Verhältnisse geprüft werden sollen, unerläßlich, die jeweilige Resistenz der Blutemulsion durch Kontrollen festzustellen. Nur ganz ausnahmsweise erwiesen sich die Erythrocyten eines Tieres so resistent, daß eine Hämolyse völlig ausblieb. Im allgemeinen kam es bei genügend langer Einwirkung der Organe zu einer mindestens partiellen Lösung.

Wie groß jedoch gelegentlich die Differenzen sein können, ergibt sich aus Tabelle III.

Tabelle III.

Hämolyse von Blutkörperchen von 2 Hammeln.

Resultat nach 4 Stunden bei 37° und 18 Stunden bei Zimmertemperatur.

Organ	1. Tier	2. Tier
Gehirn (Mensch)	völlig	gering
Schilddrüse („)	„	mittelstark
Ovarien („)	mittelstark	0
Hoden („)	völlig	fast völlig
Ovarien (Schaf)	„	0
Mesenterialdrüsen (Schaf)	„	0

Durch Digestion mit Serum werden die Organstückchen hämolytisch unwirksam.

Als Beispiel dafür, wie die Digestion mit Serum die hämolytische Wirkung von Organstückchen beeinflußt, dienen nachfolgende Versuche.

Tabelle IV.

Organstückchen versetzt mit je 2 ccm 5-proz. inaktivem Menschenserum. Dauer der Digestion: 2 Stunden bei 37° und 14 Stunden bei Zimmertemperatur. Abgießen des Serums. Zusatz von je 2 ccm 1-proz. Hammelblut. Beobachtung der Hämolyse nach 2 Stunden bei 37° (I) und nach weiteren 5 Stunden bei Zimmertemperatur (II). Kontrollen mit nicht digerierten Organstückchen.

Organe	Hämolyse			
	nicht digeriert		mit Serum digeriert	
	I	II	I	II
Hoden I	mittelstark	fast völlig	0	0
„ II	„	„ „	0	0
„ III	völlig	völlig	0	0
Placenta	sehr stark	„	0	mäßig
Schilddrüse	mittelstark	sehr stark	0	0
Gehirn	fast völlig	völlig	0	0

Nachfolgender Versuch zeigt die Abnahme der inaktivierenden Wirkung des Serums mit fallender Konzentration.

Tabelle V.

Anstellung des Versuches wie in Tabelle IV. Inaktives Menschenserum. Beobachtung der Hämolyse nach $2^1/_2$ Stunden bei 37° und 18 Stunden bei Zimmertemperatur.

Serumverdünnung	Hämolyse
1 %	0
0,5 %	0
0,1 %	0
0,05 %	mäßig
0,01 %	mittelstark
Kochsalzlösung	völlig

Ein deutlicher Unterschied in der antihämolytischen Wirkung zwischen aktivem und inaktivem Serum trat nicht hervor; im allgemeinen schienen aktive Sera etwas wirksamer zu sein als inaktive.

Es wurden Sera von Menschen, Meerschweinchen, Pferden und Rindern geprüft; sie arbeiteten in den verschiedenen Versuchen hinsichtlich der Intensität ihrer Wirkung nicht völlig übereinstimmend, zeigten jedoch keine qualitativen Verschiedenheiten.

Die Dauer der Digestion muß reichlich bemessen sein. Entfernte man das Serum bereits nach $1^1/_2$- oder 2-stündigem

Aufenthalt der Gläser im Brutschrank, so war die abschwächende Wirkung noch eine relativ geringe. Ließ man das Serum bis zum folgenden Tage, also 15—20 Stunden bei Zimmertemperatur noch weiterwirken, so war der Effekt regelmäßig stark und eindeutig.

Die völlige Befreiung der Organstückchen von Serum durch Waschen mit Kochsalzlösung übt keinen oder einen nur sehr geringfügigen Einfluß aus. Meist zeigten die digerierten Organe keine Hämolyse, selbst wenn sie über Nacht, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, im Eisschrank gestanden hatten.

Ging man so vor, daß man die Organe nicht vor dem Blutzusatz mit Serum digerierte, sondern sie gleichzeitig mit Serum und Blutemulsion zusammenbrachte, so gab sich im allgemeinen keine oder eine nur geringfügige Hemmung der Hämolyse zu erkennen. Das hängt offenbar mit der bereits betonten relativen Langsamkeit der Serumwirkung auf die Organsubstrate zusammen.

Durch die Serumdigestion wurden die Organe um so leichter im Sinne der Inaktivierung beeinflußt, je aufgelockerter ihr Gewebe war.

Die nach den Vorschriften Abderhaldens bereiteten Organsubstrate bewirken also unspezifische Hämolyse und werden dieser Fähigkeit durch Serum beraubt.

Wir begegnen hier Erscheinungen, die uns einerseits von Organextrakten [Korschun und Morgenroth (14), Kraus und Clairmont (15)] und andererseits von anorganischen Kolloiden [Gengou (16), Friedberger und Kumagai (17)] bekannt sind. Wenn man sich vergegenwärtigt, daß auch bei Organextrakten die hämolytische Wirkung nicht an die flüssigen Bestandteile, sondern an feste Teilchen gebunden ist [Morgenroth und Schaefer (18)] und weiterhin in Betracht zieht, daß ausgequetschte und ausgekochte, vorwiegend aus Stützgewebe bestehende Organstückchen und schließlich anorganische korpuskuläre Elemente gleiche Wirkungen ausüben und durch gleiche Einflüsse ihre Wirkungen verlieren, so wird man an eine nahe Verwandtschaft der ursächlichen Beziehungen denken dürfen.

Bei der hämolytischen Wirkung der Organextrakte handelt es sich ja wohl nicht um unter sich einheitliche Vorgänge, die rein chemische Natur der hier maßgebenden Einflüsse wurde aber wohl bisher in einer zu einseitigen Weise angenommen. Nachdem Friedberger und Kumagai gezeigt haben, daß chemisch völlig indifferente korpuskuläre Elemente lediglich auf physikalischem Wege hämolysieren, ist es nicht einzusehen, warum man die korpuskulären Elemente der Organextrakte, von denen ganz allein die hämolytischen Wirkungen der Extrakte ausgehen [1]), für nur chemisch wirksam und physikalisch indifferent halten sollte.

Unsere Feststellungen über die hämolytischen Wirkungen der ninhydrinnegativen Organbestandtelle, die gewissermaßen Rückstände bei der Extraktion darstellen, scheinen uns gewissermaßen für das Verständnis eine Brücke zu schlagen zwischen der Hämolyse durch Organextrakte und der Hämolyse durch anorganische Suspensionen.

Für unsere Beobachtungen an gekochtem Organmaterial darf man ihr Wirken wohl in weitem Umfang annehmen.

Wir beobachteten nämlich stärkste hämolytische Wirkungen auch bei sehr malträtierten Organbestandteilen, die unter fortgesetzter Spülung im Mörser in einem Grade zerrieben waren, daß kaum noch etwas anderes als Bindegewebe übriggeblieben war, die dazu sehr häufig gekocht und seit der ursprünglichen Präparation bis über ein Jahr aufbewahrt waren. Von diesen Substraten noch chemische Wirkungen, wie etwa die Abgabe von Seifen, zur Erklärung ihrer hämolytischen Wirkung anzunehmen, dürfte wohl nicht berechtigt sein. Vielmehr kann ihre rein physikalische und daher mit der der anorganischen Kolloide übereinstimmende Rolle kaum bestritten werden.

Von wie ausschlaggebender Bedeutung der physikalische Zustand der Substrate für das Eintreten der Hämolyse ist, ergibt sich aus der Beobachtung, daß durch Eintrocknen die

---

1) Morgenroth und Schäfer (Biochem. Zeitschr., Bd. 21, 1909) stellten fest, daß nach Entfernung der feinsten Teilchen aus den Organextrakten durch Filtration mittels poröser Filter die hämolytische Wirkung völlig verschwindet; deshalb sei es besser, von hämolytischen Suspensionen anstatt von hämolytischen Extrakten zu sprechen.

Organstückchen fast völlig ihre Fähigkeit zu hämolysieren verlieren.

Nach den Feststellungen von Friedberger und Kumagai bewirken anorganische Kolloide (Kaolin, Aluminiumhydroxyd, Talkum) die Hämolyse dadurch, daß sie Eiweißkörper der Erythrocyten adsorbieren. Die Inaktivierung der Kolloide durch Serum wird von diesen Autoren in folgender Weise erklärt: In Gegenwart von Serum adsorbieren die Kolloide Eiweiß aus diesem und nicht aus den Blutkörperchen, die infolgedessen vor der Hämolyse geschützt bleiben [1]).

Wichtig im Sinne dieser Absättigungstheorie waren weitere Beobachtungen von Friedberger und Kumagai, wonach die hämolytische Wirkung, i. e. die Adsorptionskraft der Kolloide durch Digestion mit Blut sich ebenso erschöpft wie durch Digestion mit Serum bzw. Eiweiß. Durch wiederholte Digestion mit Blut werden die Kolloide ahämolytisch.

Es schien uns, um den Parallelismus der Adsorptionsphänomene bei den anorganischen Kolloiden und den Organsubstraten zu prüfen, wünschenswert, entsprechende Untersuchungen bei letzteren anzustellen. Wir untersuchten bei einer Anzahl verschiedener Organe in einer Reihe aufeinanderfolgender Tage die Wirkung der wiederholten Digestion mit Blut.

Tabelle VI.

1-proz. Hammelblutkörperchenemulsion je 2 ccm.

Organsubstrat vom üblichen Volumen.

Dauer der Digestion: je 2 Stunden bei 37° und 20 Stunden bei Zimmertemperatur.

Von den digerierten Organen wurde, wenn völlige Hämolyse eingetreten war, die Hämoglobinlösung abgegossen; war die Hämolyse nicht vollständig, so wurde das Blut durch 1—2maliges Waschen mit NaCl-Lösung fortgeschwemmt. An jedem der aufeinanderfolgenden Versuchstage wurde die jeweilige Resistenz der Blutkörperchen durch Einstellung von Kontrollen mit nicht digerierten Teilen der betreffenden Organe ermittelt.

I Resultat nach 2 Stunden bei 37°.

II Resultat nach 2 Stunden bei 37° und 20 Stunden bei Zimmertemperatur.

---

1) Wir sind zurzeit mit Untersuchungen beschäftigt über die Natur der Substanzen, welche die Organsubstrate dem Serum zu entziehen vermögen. Darüber soll demnächst ausführlich berichtet werden.

a.
1. Tag:
Hämolyse nach 1maliger Digestion mit Blut.

	Organe 1mal digeriert		Organe nicht digeriert	
	I	II	I	II
Aorta I	stark	völlig	völlig	völlig
„ II	mittelstark	„	fast völlig	„
Hoden I	0	0	stark	„
„ II	0	0	mittelstark	„
Placenta	0	0	stark	„
Gehirn	mittelstark	völlig	völlig	„
Hammelhoden	0	0	mittelstark	„
Schafsovarien	mäßig	stark	stark	„

b.
2. Tag:
Hämolyse nach 2maliger Digestion mit Blut.

	Organe 2mal digeriert		Organe nicht digeriert	
	I	II	I	II
Aorta I	mittelstark	völlig	sehr stark	völlig
„ II	mäßig	Spur	völlig	„
Hoden I	0	0	mäßig	fast völlig
„ II	0	0	mittelstark	völlig
Placenta	0	0	sehr stark	„
Gehirn	fast 0	mäßig	mäßig	„
Hammelhoden	0	0	mittelstark	„
Schafsovarien	0	0	„	fast völlig

c.
3. Tag:
Hämolyse nach 3maliger Digestion mit Blut.

	Organe 3mal digeriert		Organe nicht digeriert	
	I	II	I	II
Aorta I	mittelstark	völlig	völlig	völlig
„ II	mäßig	fast völlig	„	„
Gehirn	0	0	„	„

d.
5. Tag:
Hämolyse nach 5maliger Digestion mit Blut.

	Organe 5mal digeriert		Organe nicht digeriert	
	I	II	I	II
Aorta I	gering	mittelstark	völlig	völlig
„ II	0	0	„	„

e.

9. Tag:
Hämolyse nach 9maliger Digestion mit Blut.

	Organe 9mal digeriert		Organe nicht digeriert	
	I	II	I	II
Aorta I	0	0	völlig	völiig

Aus der Versuchsreihe ergibt sich, daß Digestion mit Blutkörperchen den Organstückchen ihre hämolytische Wirksamkeit nimmt.

Die Versuche lehren weiterhin, daß die verschiedenen Organe hinsichtlich ihrer Inaktivierung durch Blutdigestion sehr verschieden resistent sind. Während bei Hoden des Menschen und des Hammels, sowie bei Placenta eine 1malige Digestion zur Inaktivierung führte, bedurfte es bei Schafsovarien einer 2maligen, bei Gehirn einer 3maligen, bei Aorta I einer 5-maligen, bei Aorta II sogar einer 9maligen Wiederholung der Prozedur. Diese Differenzen scheinen auf Konsistenzunterschieden der Organsubstrate zu beruhen; je aufgelockerter die Gewebe sind, desto rascher werden sie unwirksam, je konsistenter, desto langsamer.

Die Hämolyse durch Organsubstrate zeigt also hinsichtlich der Erschöpfung ihrer Intensität durch Wiederholung das gleiche Verhalten wie die durch anorganische Kolloide hervorgerufene Hämolyse.

Nachdem bereits durch unsere früheren Untersuchungen erwiesen war, daß bei dem Dialysierverfahren anorganische Elemente in einer von der Wirkung von Organstückchen nicht zu unterscheidenden Weise Anlaß zur Entstehung ninhydrinpositiver Dialysate geben können, sind unsere neueren Feststellungen geeignet, die schon früher geäußerte Vermutung zu stützen, daß es ebenso wie bei anorganischen Substanzen auch bei Organstückchen durch Adsorptionswirkungen zu einem gesteigerten Abbau von Serumeiweiß kommen und hierdurch Organabbau vorgetäuscht werden kann.

Diese Annahme erhält nun noch größere Wahrscheinlichkeit durch folgende Beobachtungen:

Wie mitgeteilt wurde, hämolysieren menschliche und tierische Organsubstrate beliebige Arten ihnen vorgesetzter Blutkörperchen.

Diese Wirkung wird nun durch erneutes Nachkochen der Organe vor Anstellen der Versuche erheblich beeinträchtigt. Bei besonders lockerem Gewebe genügt oft ein einmaliges Nachkochen von 5 Minuten Dauer, um die hämolytische Wirkung fast völlig oder gar völlig aufzuheben. Konsistentere Organstückchen bedürfen meist längeren und wiederholten Auskochens zu ihrer völligen Inaktivierung. Am widerstandsfähigsten erwiesen sich Pankreas und Leber. Bei der Widerstandsfähigkeit des Pankreas mögen die von U. Friedemann bei Extrakten dieses Organes festgestellten besonderen Hämolysine, bei der Widerstandsfähigkeit der Leber mag die hämolytische Wirkung der gallensauren Salze in Betracht kommen. Uebrigens sind auch diese Organe durch wiederholtes Kochen hämolytisch unwirksam zu machen.

Die nachfolgenden Versuchsprotokolle illustrieren das Gesagte. Es finden sich in ihnen die Resultate der Hämolyse verschieden lang nachgekochter und nicht nachgekochter Teile derselben Organsubstrate gegenübergestellt. Das nicht nachgekochte Material war sowohl bei der ursprünglichen Präparation als auch wiederholt späterhin auf das intensivste ausgekocht, jedoch seit 3—4 Wochen vor den Versuchen nicht nachgekocht worden.

Tabelle VII.

Organe, am Versuchstage je 5 Minuten nachgekocht, desgleichen Organe nicht nachgekocht. Wiederholte Spülung in NaCl-Lösung. Zusatz von je 2 ccm 1-proz. Hammelblutemulsion. Resultat abgelesen nach 4 Stunden bei 37° und 18 Stunden bei Zimmertemperatur.

Organe	Hämolyse	
	nicht nachgekocht	5 Minuten nachgekocht
Schilddrüse (Mensch)	mittelstark	0
Aorta („)	völlig	0
Gehirn („)	mäßig	mäßig
Leber („)	völlig	völlig
Hoden („)	fast völlig	fast 0
Hoden (Hammel)	völlig	0

Es ergibt sich, daß mit Ausnahme von Gehirn und Leber bei den Organen einmaliges Kochen von 5 Minuten Dauer zur Inaktivierung völlig oder nahezu völlig ausreichte. Die Versuche werden jedoch durch die verschiedene Resistenz der Erythrocyten stark beeinflußt. Ich verfüge über eine Anzahl von Versuchsprotokollen, in denen infolge besonders geringer Resistenz der Erythrocyten die Wirkung eines solch kurzen einmaligen Nachkochens sich kaum manifestierte.

Wie wiederholtes Auskochen auch die relativ widerstandsfähigsten Organe, Pankreas und Leber, zu inaktivieren vermag, zeigt

Tabelle VIII.

Organe	Nicht nachgekocht	1mal 5 Minuten nachgekocht	6mal 10 Minuten nachgekocht
Pankreas	völlig	völlig	0
Leber	„	fast völlig	0

Die Abschwächung bzw. Aufhebung der hämolytischen Wirkung ist eine vorübergehende Erscheinung. Die volle Wirkung kehrt regelmäßig zurück. Man kann an dem gleichen Organmaterial das Experiment beliebig oft wiederholen, ohne daß es zu einer dauernden Beeinträchtigung seiner hämolytischen Fähigkeiten kommt. Die Zeitdauer der Nachwirkung des Kochaktes hängt von der Konsistenz der Gewebe einerseits und von der Intensität des Kochens andererseits ab. Je konsistenter das Gewebe ist und je kürzer der Kochakt dauert, um so geringer ist die Nachhaltigkeit des Phänomens. Derbe Gewebsstücke, wie z. B. Aorta, können nach kurzem Kochen schon am nächsten Tage wieder voll wirksam sein.

Unter den günstigsten Bedingungen, d. h. bei sehr lockerem und sehr stark gekochtem Gewebe, können bis zu 14 Tage verstreichen, bis die letzten Spuren der Abschwächung ausgeglichen sind.

Die nachfolgende Tabelle gibt eine Anzahl von Tagen aus einer sich über 3 Wochen erstreckenden Beobachtung der Nachwirkung des Kochaktes mehrerer Organe.

Tabelle IX.

Hämolyse von Hammelblut in der üblichen Versuchsanordnung.

A. Organmaterial an den beiden dem 1. Versuchstage voraufgegangenen Tagen je 3mal 10 Minuten gekocht.

B. Das nämliche Organmaterial seit 4—6 Wochen nicht nachgekocht.

Organe	1. Tag		7. Tag		12. Tag		20. Tag	
	A	B	A	B	A	B	A	B
Hoden a (Mensch)	0	völlig	fast 0	fast völlig	stark	fast völlig	völlig	völlig
„ b („)	0	fast völlig	mittelstark	sehr stark	völlig	völlig	fast völlig	fast völlig
Schilddrüse („)	0	völlig	mäßig	stark	sehr stark	„	völlig	völlig
Gehirn („)	0	„	völlig	völlig	völlig	„	„	„
Hoden (Hammel)	0	„	stark	„	„	„	„	„

Die geringfügigen Unterschiede der hämolytischen Wirkung der Kontrollen (B) an den verschiedenen Tagen sind durch die Resistenzdifferenzen der jeweils benutzten Blutemulsionen bedingt.

Mit dem Gehalt der Organstückchen an ninhydrinpositiven Substanzen hat das Phänomen nichts zu tun. Völlig ninhydrinnegative Organbestandteile vermögen in intensiver Weise zu hämolysieren.

Setzen wir die hämolysierende Wirkung der Organstückchen gleich ihrer adsorbierenden, so erkennen wir, wie notwendig das von Abderhalden so ausdrücklich verlangte regelmäßige Auskochen vor dem Versuche ist. Es werden durch den Kochakt nicht nur ninhydrinpositive Stoffe entfernt, sondern gleichzeitig wird ein physikalischer Zustand der Organstückchen geschaffen, der die Adsorptionswirkung und damit wohl auch die Intensität des Abbaues von Serumeiweißkörpern verringert.

Prüft man mittels des Dialysierverfahrens eine Reihe von Sera gleichzeitig gegen frisch nachgekochte und nicht nachgekochte Teile eines von ninhydrinpositiven Substanzen freien Organsubstrates, so kann man leicht feststellen, daß

die positiven Reaktionen bei Verwendung nicht nachgekochten Materials häufiger und intensiver eintreten [1]).

Man sieht hier, daß das Auskochen vor dem Versuche, eine durch die Erfahrung als notwendig erwiesene Maßnahme, Einflüssen entgegenwirkt, deren Vorhandensein man nicht kannte, deren Abschwächung jedoch zur Erzielung „spezifischer“ Abbauprozesse offenbar von Wichtigkeit ist.

In gleichem Sinne ist wohl eine weitere Beobachtung zu deuten.

Bekanntlich ist ein Haupterfordernis zur Erzielung einwandsfreier Resultate die möglichst vollkommene Entfernung des Blutgehalts aus den Organen. In der Tat geben bluthaltige Organe häufiger positive Dialysate als blutfreie. Erklärt wurde diese Beobachtung damit, daß das aktive Serum häufig gegen Blut eingestellte Fermente enthält, die das in den Organstückchen enthaltene Blut abbauen. Es ist ohne weiteres verständlich, daß es durch solchen Blutabbau zu positiver Reaktion kommen kann, obwohl das Organparenchym nicht abgebaut wird, hierin also eine ernstliche Fehlerquelle liegt.

Durch die Entfernung des Blutes wird nun auch das Organ hinsichtlich seiner physikalischen Beschaffenheit beeinflußt. Auch wenn nicht die Zermalmungsmethode angewandt wird, sondern die Auswaschung mittels Durchspülung von den Gefäßen aus erfolgt, wird durch die Entleerung der Kapillaren die Konsistenz der Organstückchen eine wesentlich andere sein, als wenn die Kapillaren mit geronnenen Blutmassen erfüllt sind.

Noch größer wird allerdings der Unterschied, wenn das Organ dem üblichen, zur Blutentfernung angewandten Ausquetschungsverfahren unterzogen wird, da die Organe aus

1) Man kann wohl einwenden, daß ohne erneute Prüfung des Kochwassers aus dem gesamten Substrate vor dem Versuche es nicht statthaft ist, ein Urteil über die Beschaffenheit einzelner Teile hinsichtlich der Ninhydrinreaktion abzugeben. Es ist jedoch sehr unwahrscheinlich, daß gerade die nicht nachgekochten Teile ninhydrinpositive Substanzen abgeben, wenn das übrige nachgekochte Substrat des betreffenden Organs ein negatives Kochwasser liefert.

dieser Prozedur als vorwiegend aus Bindegeweben bestehende Trümmer hervorgehen.

Da wir nun beobachtet hatten, daß der physikalische Zustand der Organsubstrate von Bedeutung ist für die Intensität der Hämolyse, damit wohl auch für die Intensität der Adsorptionsvorgänge und des mit ihnen in Zusammenhang stehenden Serumabbaues, mußten wir daran denken, daß die die Entblutung herbeiführenden Prozeduren in dieser Richtung von Einfluß sein könnten.

Wir verarbeiteten eine Anzahl von Organen in der Weise, daß wir einem Teil den Blutgehalt beließen, den anderen Teil durch Zerquetschen und Spülen blutfrei machten, im übrigen bezüglich Kochens usf. die Organe bis zum Negativwerden der Kochwasser gleich behandelten. Es zeigte sich nun, daß in der Tat die bluthaltigen Stückchen eine stärkere hämolytische Wirkung entfalteten als die blutfreien. Es wurden 2 Schilddrüsen, Muskel und ein Hammelhoden untersucht.

Tabelle X.

Organe zum Teil bluthaltig, zum Teil blutfrei. Letztes Auskochen 3 Wochen vor dem Versuche. 1-proz. Hammelblut je 2 ccm.

I nach 2 Stunden bei 37°
II „ 2 „ „ 37° und 5 Stunden bei Zimmertemperatur
III „ 2 „ „ 37° „ 20 „ „ „

		I	II	III
Schilddrüse	bluthaltig	gering	mittelstark	völlig
	blutfrei	0	mäßig	mittelstark
Muskel	bluthaltig	mittelstark	sehr stark	völlig
	blutfrei	gering	mittelstark	„
Hammelhoden	bluthaltig	0	stark	„
	blutfrei	0	mittelstark	sehr stark

Der Versuch zeigt, daß bei den verschiedenen Organen, die untereinander verschieden stark lösen, die bluthaltigen Teile stärker hämolysieren als die blutfreien.

Entsprechend der höheren hämolytischen Intensität der bluthaltigen Stücke wirkte auch die Serumdigestion ceteris paribus in geringerem Grade abschwächend, als das gegenüber blutfreien Stücken der Fall war.

Tabelle XI.

Digestion bluthaltiger und blutfreier Stückchen einer Schilddrüse mit inaktivem menschlichen Serum in fallender Konzentration (2 ccm der Verdünnungen). Dauer der Digestion: 3 Stunden bei 37° und 6 Stunden bei Zimmertemperatur. Abgießen der Serumverdünnungen. Zusatz von je 2 ccm 1-proz. Hammelblut. Ablesung der Hämolyse nach 2 Stunden bei 37° und 20 Stunden bei Zimmertemperatur.

Serumverdünnung	Hämolyse	
	Schilddrüse a	
	bluthaltig	blutfrei
10 %	mittelstark	0
8 %	„	0
6 %	„	0
4 %	stark	0
2 %	„	0
NaCl-Lösung	völlig	völlig

Die Beobachtung, daß die Ausführung des Kochaktes kurz vor Anstellung der Versuche und die Entfernung des Blutes aus den Organsubstraten der Adsorptionskraft der Organsubstrate und damit ihrem Einfluß auf die im Serum sich abspielenden Vorgänge entgegenwirken, scheint uns für die Bedeutung der Adsorptionswirkungen für die Abbauvorgänge im Serum zu sprechen.

Daß die beiden von Abderhalden als so wesentlich für die Vermeidung unspezifischer ninhydrinpositiver Dialysate bezeichneten Forderungen auch wirklich den Effekt ausüben, den Abderhalden mit ihnen im Auge hat, soll nicht bestritten werden; andererseits halten wir es jedoch für recht unwahrscheinlich, daß die von uns beobachteten Nebenwirkungen dieser Prozeduren rein zufälliger und belangloser Art sind.

Sie fügen sich in einer unseres Erachtens zu eindeutigen Art in das Ensemble unserer Beobachtungen ein.

Zusammenfassung.

1) Die im Abderhaldenschen Dialysierverfahren zur Verwendung gelangenden Organstückchen bewirken unspezifische Hämolyse.

2) Durch Digestion mit Serum kann diese Wirkung aufgehoben werden.

3) Durch wiederholte Digestion mit Blut werden die Organstückchen ahämolytisch.

4) Diese Phänomene werden auf Adsorption von Eiweißkörpern zurückgeführt und in Parallele gestellt zu dem gleichartigen Verhalten anorganischer Suspensionskolloide.

5) Auf die Bedeutung, welche diese Vorgänge für die Verstärkung des Abbaues von Serumeiweiß beim Dialysierverfahren und damit für die Entstehung unspezifischer Resultate haben können, wird hingewiesen.

6) Durch intensives Auskochen der Organstückchen kurz vor Anstellung des Versuches, sowie durch völlige Entfernung des Blutgehaltes aus den Organstückchen kann man ihre Adsorptionskraft und damit ihre störenden Nebenwirkungen abschwächen.

Literatur.

1) Steising, Münch. med. Wochenschr., 1913, No. 28.
2) Stephan, ebenda, 1914, No. 15.
3) Hauptmann, ebenda, 1914, No. 21.
4) Lange, C., Berl. klin. Wochenschr., 1914, No. 17.
5) Plaut, F., Münch. med. Wochenschr., 1914, No. 5.
6) Friedemann und Schönfeld, ebenda, 1914, No. 8.
7) Hauptmann, Allg. Zeitschr. f. Psychiatrie, Bd. 71, p. 747.
8) De Waele, Compt. rend. Soc. Biol., T. 76, 1914, p. 627.
9) Wassermann, M., und Keysser, Fol. serol., Bd. 7, p. 243 u. 593; Zeitschr. f. Hyg., Bd. 68, p. 535.
10) Ritz und Sachs, Berl. klin. Wochenschr., 1911, No. 22.
11) Nathan, Zeitschr. f. Immunitätsf. etc., Bd. 18, 1913, p. 636.
12) Sachs und Nathan, Berl. klin Wochenschr., 1914, No. 25.
13) Hirschfeld und Klinger, ebenda, 1914, No. 25.
14) Korschun und Morgenroth, ebenda, 1902, No. 37.
15) Kraus und Clairmont, Wiener klin. Wochenschr., 1901.
16) Gengou, Compt. rend. de l'Acad. des Sciences, 1906, T. 1, p. 138.
17) Friedberger und Kumagai, Zeitschr. f. Immunitätsf. etc., Bd. 13, 1912, Heft 2.
18) Morgenroth und Schäfer, Biochem. Zeitschr., Bd. 21, 1909, p. 305.

[Aus der serologischen Abteilung (Prof. Dr. Otto) des Königl. Instituts für Infektionskrankheiten „Robert Koch“ in Berlin (Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Löffler).]

Ueber die Giftigkeit des Blutserums von Luetikern für anaphylaktisierte Meerschweinchen.

Von **Walter Misch**, Berlin.

(Eingegangen bei der Redaktion am 4. Juni 1915.)

Im Jahre 1911 hat Wladyczko darauf hingewiesen, daß die Blutsera von Syphilitikern im Anaphylaxieversuch giftiger sind, als die Sera Nichtsyphilitischer. Er fand, daß bei 5 Seris mit Wassermann-negativer Reaktion die Dosis letalis für vorbehandelte Meerschweinchen 0,07 bis 0,1 ccm betrug, während sie bei Wassermann-positiven Seris bei 0,035 bis 0,05 ccm lag. Diese Angaben erschienen uns einer Nachprüfung bedürftig, da Wladyczko nur mit einer kleinen Anzahl (3) Wassermann-positiver Sera Versuche angestellt hatte. Aus dem uns vorliegenden kurzen Referat war auch nicht ersichtlich, ob Wladyczko die Sera aktiv oder inaktiv geprüft, und ob er zu den Versuchen gleichmäßig überempfindliche Meerschweinchen benutzt hatte. Gerade dieser letztere Umstand mußte besonders wichtig erscheinen, da aus der Anaphylaxieforschung bekannt ist, daß der Grad der Anaphylaxie nach dem Zeitpunkte der Vorbehandlung sehr verschieden ist. Schließlich fehlten in dem Referat auch Angaben über Kontrolluntersuchungen an normalen Meerschweinchen, die allein entscheiden konnten, ob es sich bei der Giftigkeit der luetischen Sera um eine anatoxische Wirkung und nicht um eine allgemein erhöhte Toxizität für Meerschweinchen handelte.

Von diesem Gesichtspunkte aus haben wir eine Nachprüfung der Versuche von Wladyczko unternommen.

Zu diesem Zwecke wurden Meerschweinchen subkutan mit je 0,01 ccm normalen Menschenserums vorbehandelt. Nach 3—5 Wochen wurde dann die Reinjektion mit dem zu prüfen-

den Serum Syphilitischer und stets gleichzeitig mit Proben von normalem Menschenserum vorgenommen.

Das zu prüfende Serum bzw. das Kontrollserum wurde den Tieren intravenös (in die Vena jugularis) eingespritzt. Die verschiedenen Serumdosen wurden jedesmal mit Kochsalzlösung auf 1 ccm Gesamtflüssigkeitsmenge aufgefüllt.

Bei bestimmten Dosen traten nun bei den reinjizierten Tieren die bekannten anaphylaktischen Erscheinungen in verschieden starkem Grade auf. Als „leichtkrank“ haben wir die Tiere bezeichnet, wenn sie nach der Injektion nur unruhig wurden und geringe Temperatursteigerungen zeigten. Regelmäßig bestand bei diesen Tieren ein lebhafter Juckreiz, der sich besonders in der Weise äußerte, daß sie sich an den Pfoten knabberten oder mit den Pfoten an der Schnauze rieben. Eine zweite Serie der Tiere erkrankte schwerer: es trat meist ein starker Temperatursturz ein, die Tiere fielen um und boten unter lebhaften Krämpfen das Bild schwerster Atemnot; trotzdem erholten sich die Tiere allmählich. Einige gingen allerdings nach 1—2 Tagen noch ein. Bei den anderen setzten die Krankheitserscheinungen ebenfalls sofort mit der gleichen Schwere ein, die Tiere gingen dabei innerhalb weniger Minuten unter schwersten Krämpfen ein. Die Sektion ergab die für den anaphylaktischen Shock charakteristischen Befunde. Zwischen Erscheinungen leichtester und schwerster Erkrankung finden sich fließende Uebergänge. Wir haben daher in den folgenden Tabellen nur unterschieden zwischen „tot“ und „davon“, aber die Tiere der Gruppe II, soweit sie nachträglich eingingen, besonders aufgeführt.

Zunächst haben wir eine Serie von 20 Wassermann-negativen und 23 Wassermann-positiven Seris in der Weise geprüft, daß wir das Serum inaktiviert ($^1/_2$ Stunde bei 55° C), wie es bei der Anstellung der Wassermannschen Reaktion gebraucht wird, den Tieren injiziert haben. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle I A zusammengestellt. Es können natürlich nur die Zahlen miteinander verglichen werden, welche bei Tieren gewonnen wurden, die sich im gleichen Stadium der Anaphylaxie befanden. Es ergab sich nun in der Tat ein Unterschied in der Höhe der tödlichen Dosis zugunsten der Sera Syphilitischer, ohne daß derselbe

Tabelle I.

Anatoxische Wirkung von luetischen und nichtluetischen Blutseris.

A. Inaktivierte Sera.

Versuch No.	Tiere vorbehandelt am	Datum der Reinjektion	Serumbezeichnung	Serumdosis						Bemerkungen
				0,2	0,15	0,1	0,05	0,025	0,01	
1	3. X. 13	25. X. 13	I	.	.	+	+	0	.	Wa.R. negativ
			II	.	.	+	0	.	.	
			Zi.	+	.	0	.	.	.	
			A.	.	.	.	**+**	**0**	**0**	**Wa.R. positiv**
			B.	.	.	.	**0**	**0**	.	
			III.	.	.	.	**+**	.	.	
			Wa.	**+**	.	**0**	.	.	.	
			Pu.	.	.	**+**	.	.	.	
2	14. XI. 13	6. XII. 13	Br.	.	.	.	0	.	.	Wa.R. negativ
			4	.	.	0	0	.	.	
			He.	.	.	.	0	.	.	
			Stn.	.	.	.	0	.	.	
			We.	.	.	0	0	.	.	
			Re.	.	.	.	**0**	.	.	**Wa.R. positiv**
			G.	.	.	.	**0**	.	.	
			Ka.	.	.	.	**0**	.	.	
			Sa.	.	.	**+**	**0**	.	.	
			Wi.	.	.	**+**	**0**	.	.	
3	14. XI. 13	9. XII. 13	Alb.	.	.	0	.	.	.	Wa.R. negativ
			Kr.	.	○+	0	.	.	.	
			Schw.	.		0	.	.	.	
			Za.	.		0	.	.	.	
			Ne.	.	○+	0	.	.	.	
			Man.	.	.	**0**	.	.	.	**Wa.R. positiv**
			Pe.	.	.	**+**	.	.	.	
			P_4	.	.	**0**	.	.	.	
			Ro.	.	.	**○+**	.	.	.	
			Ne.	.	.	**○+**	.	.	.	
4	17. II. 14	25. III. 14	No.	.	+	0	0	.	.	Wa.R. negativ
			Sy.	.	**+**	**○+**	.	.	.	**Wa.R. positiv**
5	13. III. 14	1. V. 14	Kä.	.	.	+	0	.	.	Wa.R. negativ
			Han.	.	.	.	**+**	**+**	.	**Wa.R. positiv**
			We.	.	.	.	**+**	.	.	
			Ho.	.	.	**+**	**○+**	.	.	
6	10. V. 14	9. VI. 14	Dall.	.	.	+	+	+	0	Wa.R. negativ
			Ki.	.	.	+	0	.	.	
			Ar.	.	.	+	0	.	.	
			Bo.	.	.	**+**	**0**	.	.	**Wa.R. positiv**
			Hei.	.	.	.	**+**	**+**	**0**	
			Arn.	.	.	**0**	**0**	.	.	
7	12. VI. 14	9. VII. 14	Rich.	.	.	+	.	.	.	Wa.R. negativ
			Eich.	.	.	○+	.	.	.	
			Fri.	.	.	**+**	.	.	.	**Wa.R. positiv**

B. Aktive Sera.

Versuch No.	Tiere vorbehandelt am	Datum der Reinjektion	Serumbezeichnung	Serumdosis 0,2	0,15	0,1	0,05	0,025	0,01	Bemerkungen
8	13. III. 14	1. V. 14	Schw.	.	.	+	0	.	.	Wa.R. negativ
			Pos.	.	.	.	**+**	**0**	.	**Wa.R. positiv**
			We.	.	.	.	**+**	.	.	
9	10. V. 14	9. VI. 14	Zi.	.	0	0	.	.	.	Wa.R. negativ
			Schm.	.	0	.	.	.	.	
			Re.	.	0	.	.	.	.	
			Hei.	.	.	.	**+**	**○+**	.	**Wa.R. positiv**
			Poh.	.	.	.	**○+**	.	.	
			Ken.	.	.	.	**+**	.	.	
10	12. VI. 14	9. VII. 14	Ri.	.	+	0	.	.	.	Wa.R. negativ
			Ei.	.	.	○+	.	.	.	
			Fri.	.	**+**	**+**	.	.	.	**Wa.R. positiv**
			Zi.	.	**+**	**0**	.	.	.	
			We.	.	**+**	**0**	.	.	.	
			Ln.	.	**+**	.	.	.	.	

+ = akut tot; ○+ = schwer krank; 0 = nur leichte Erscheinungen.

Tabelle IIa.

Prüfung luetischer und nichtluetischer Sera an normalen (unvorbehandelten) Meerschweinchen.

Bezeichnung der Sera	Injizierte Serumdosis (pro 100 g Meerschweinchen-Gewicht) 0,5	0,45	0,4	Bemerkungen
I. Inaktivierte Sera.				
Schw.	0	0	0	Wa.R. negativ
Mee.	**0**	**0**	**0**	**Wa.R. positiv**
We.	**0**	**0**	**0**	
Pos.	**0**	**0**	**0**	
II. Aktive Sera.				
No.	+	.	0	Wa.R. negativ
Schw.	0	0	0	
Sy.	.	**○+**	.	**Wa.R. positiv**
Me.	**0**	**0**	**0**	
We.	**0**	**0**	**0**	
Pos.	**+**	**+**	**0**	

Tabelle IIb.

Protokolle zur Uebersichtstabelle IIa.

	Datum	Gewicht des Tieres	Dosis pro 100 g	Injizierte Dosis	Aktiv bzw. inaktiv?	Bezeichnung der Sera	Wa.R.	Bemerkungen
A.	29. IV. 14	230	0,4	0,9	inaktiv	Pos.	+	keine Erscheinungen
		260	0,4	1,05		Me.	+	„ „
		225	0,4	0,9		We.	+	„ „
		180	0,4	0,7		Schw.	—	„ „
		220	0,5	1,1		Pos.	+	leichte Zuckungen
		230	0,5	1,15		Me.	+	leicht krank
		235	0,5	1,2		We.	+	„ „
		200	0,5	1,0		Schw.	—	„ „
		210	0,45	0,95		Pos.	+	leichte Zuckungen
		220	0,45	1,0		Me.	+	leicht krank
		220	0,45	1,0		We.	+	„ „
		200	0,45	0,9		Schw.	—	„ „
B.	25. III. 14	290	0,4	1,2	aktiv	No.	—	leicht krank
		285	0,5	1,6		No.	—	akut † nach 5 Min.
		230	0,45	1,0		Sy.	+	schwer krank, † nach 24 Std.
	29. IV. 14	210	0,4	0,84		Pos.	+	Zuckungen, † nach 24 Std.
		195	0,4	0,78		Me.	+	„ leicht krank
		185	0,4	0,74		We.	+	„ „ „
		225	0,4	0,9		Schw.	—	leicht krank
		260	0,45	1,15		Pos.	+	schwer krank, † nach 10 Min.
		245	0,45	1,1		Me.	+	leicht krank
		260	0,45	1,15		We.	+	„ „
		220	0,45	1,0		Schw.	—	„ „
		250	0,5	1,25		Pos.	+	schwer krank, † nach 8 Min.
		240	0,5	1,2		Me.	+	leicht krank
		240	0,5	1,2		We.	+	„ „
		250	0,5	1,25		Schw.	—	„ „

aber so stark ausgesprochen war, wie man es nach den Angaben von Wladyczko hätte erwarten sollen. Dieser Unterschied wurde aber deutlicher, als wir die Sera in aktivem Zustande zur Injektion verwandten, wie dies aus der Tabelle I B hervorgeht. Während die negativen Sera bei der Dosis von 0,1 ccm nur in einem Falle von 6 Seris akut töteten, wirkte bei 9 Wassermann-positiven Seris diese Dosis, ja zum Teil schon 0,05 ccm, mit einer Ausnahme regelmäßig tödlich.

Wir konnten also im allgemeinen die Angaben von Wladyczko bestätigen und haben weiter zunächst geprüft, ob syphilitische, Wassermann-positive Sera auch für normale Meerschweinchen toxischer waren, als Sera nichtsyphilitischer Menschen. Wie aus dem Protokoll Tabelle II hervorgeht, ist dieses nicht der Fall, gleichgültig, ob man aktive oder inaktive Sera verwandte. Ueber die Dosis von 0,5 ccm pro 100 g Körpergewicht sind wir nicht hinausgegangen, da bei größeren Dosen auch normale menschliche Sera für Meerschweinchen toxisch wirken.

Wir haben bei der Gelegenheit noch Sera von anderen Kranken auf ihre Toxizität für anaphylaktische Meerschweinchen geprüft und dabei gefunden, daß 3 Sera von Krebskranken sich nicht giftiger verhielten, als das zur Prüfung angewandte Serum eines nichtkrebskranken Menschen. Dieser Befund entspricht dem von Green bei subkutaner Injektion erhaltenen, der gleichfalls keinen Unterschied zwischen normalen menschlichen Seris und denen von Krebskranken gefunden hat. Auch das Serum eines Typhuskranken ergab bei der Prüfung an anaphylaktischen Tieren keine größere anatoxische Wirksamkeit als das normale Kontrollserum. Bekanntlich besitzen aber gegenüber unvorbehandelten Tieren, bei deren Impfung naturgemäß erheblich größere Dosen in Frage kommen, gewisse Krankensera, so z. B. auch die von Typhösen, nach den Befunden von Bankowski und Szymanowski, sowie von Syrenskij eine gesteigerte Toxizität.

Aus unseren Versuchen ergab sich also, daß in der Tat das Serum syphilitischer Personen für die mit Menschenserum anaphylaktisierten Meerschweinchen giftiger ist, als das Serum nichtsyphilitischer Personen, und daß für unvorbehandelte

(normale) Meerschweinchen eine erhöhte Giftigkeit des Blutserums von Luetikern nicht besteht. Hiernach ist anzunehmen, daß die Toxizität der Sera luetischer Personen lediglich auf einem vermehrten Gehalt von Eiweißsubstanzen beruht, da nach den Ergebnissen der Anaphylaxieforschung bei der anaphylaktischen Vergiftung nur diese eine Rolle spielen. Es dürfte sich hierbei um eine gesteigerte Anatoxizität infolge Vermehrung der Globuline im Blutserum handeln. So hat ja bereits Lange auf Grund der Untersuchungen an einer größeren Reihe luetischer Sera hervorgehoben, daß die im Serum durch Halbsättigung mit Ammonsulfat hervorgerufene Globulinfällung bei Luetikern meist vermehrt ist, ohne daß allerdings diese Verhältnisse mit der Wassermannschen Reaktion ganz parallel gingen. Auch der Unterschied, welcher sich bei syphilitischen und nichtsyphilitischen Seris nach der Behandlung mit Aqua destillata zeigt (Klausnersche Reaktion), beruht ja auf einer Ausfällung der im syphilitischen Serum vermehrt vorhandenen Globuline.

Zusammenfassung.

1) Syphilitisches Menschenserum ist für die mit Menschenserum anaphylaktisierten Meerschweinchen giftiger als nichtsyphilitisches Menschenserum.

2) Für unvorbehandelte (normale) Meerschweinchen besteht keine erhöhte Giftigkeit des syphilitischen Menschenserums.

3) Es ist daher anzunehmen, daß die vermehrte Toxizität des luetischen Menschenserums im Anaphylaxieversuch auf einem vermehrten Gehalt an Eiweißsubstanzen, insbesondere Globulinen, beruht.

Literatur.

Wladyczko, Prakt. Wratsch, 1911, No. 47, p. 750. Ref.: Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., 1911, p. 1021.

Bankowski und Szymanowski, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 16, 1913, p. 330.

Syrenskij, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 20, 1914, p. 543.

Lange, Zeitschr. f. Chemother., Orig., Bd. 1, p. 44.

Green, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 23, 1915, Heft 5.

[Aus der Universitäts-Augenklinik in Freiburg i. Br. (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Th. Axenfeld).]

Ueber das Verhalten der Entzündungstitergrenze des Alttuberkulins bei Reizübertragungsversuchen mittels Krotonöls von Auge zu Auge.

Von Prof. Dr. **A. v. Szily**,
I. Assistent der Klinik.

(Eingegangen bei der Redaktion am 8. Juli 1915.)

Die vorliegende kurze Mitteilung dient zur Ergänzung von Kontrollversuchen über sogenannte „sympathische spezifische und unspezifische Sensibilisierung“ (Dold und Rados), die von mir und meinen Mitarbeitern an anderen Stellen veröffentlicht worden sind.

Dold und Rados (1, 1914) fanden, daß bei Kaninchen, deren eines Auge durch Injektion von Krotonöl in einen Zustand stärkster Entzündung versetzt worden war, sich das andere Auge häufig als sensibilisiert erwies einem Reiz gegenüber, der vom Auge unvorbehandelter Tiere reaktionslos vertragen wurde (intralamelläre Injektion von 0,1 ccm einer Tuberkulinverdünnung 1 : 1 000 000).

Sie haben aus ihren Versuchen die Möglichkeit einer entzündlichen unspezifischen Sensibilisierung von symmetrisch angelegten Organen im allgemeinen ableiten wollen und äußerten auf Grund dieser Experimente auch Zweifel darüber, ob die von anderen Autoren unter ähnlichen Bedingungen beobachtete Anaphylaxie am Auge rein spezifischer Natur sei.

Sie behaupteten ferner, daß die unspezifische entzündliche Umstimmung zeitlich begrenzt ist; sie war am ausgesprochensten etwa 14 Tage nachdem das andere Auge in den Zustand der Entzündung versetzt worden war.

Das Hauptergebnis war aber nach Dold und Rados, daß uns diese Analogien mit der immer noch unergründeten „sympathischen Augenentzündung“ beim Menschen dem Verständnis auch dieser rätselhaften Krankheit wesentlich näher bringen.

Infolge der Wichtigkeit des angestrebten Beweises habe ich mich veranlaßt gefühlt, diese Versuche nachzuahmen, um so mehr, da ich für eine monographische Bearbeitung der „Anaphylaxie in der Augenheilkunde“ (2, 1914) den Ausfall dieser Versuche gern aus eigener Anschauung kennen lernen wollte.

Ueber den Ausfall der ersten Kontrollversuche hat Arisawa in dieser Zeitschrift (Bd. 22, Heft 1, p. 79) berichtet. Es zeigte sich gegenüber der Behauptung von Dold und Rados, daß die Vorbehandlung des ersten Auges mit Krotonöl auf den Verlauf der Tuberkulininjektion am zweiten Auge keinerlei irgendwie klinisch erkennbaren Einfluß ausübt.

Der negative Ausfall sämtlicher Versuche war um so bemerkenswerter, als Dold und Rados zur Reinjektion am zweiten Auge 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 1 000 000, wir aber 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 10 000, also 100-fach so hohe Dosen wie die beiden vorher erwähnten Autoren angewendet haben!

Von Dold (4, 1914) ist demgegenüber geltend gemacht worden, daß, den von Arisawa ermittelten geringeren „normalen Entzündungstiter“ in Betrachtung gezogen, die Bedingungen für das Auftreten einer sympathischen unspezifischen Umstimmung bei unseren Kontrollversuchen keine günstigeren waren, als bei seinen eigenen Versuchen. Nach seiner Darstellung handelte es sich nur um relative Differenzen, und es bliebe abzuwarten, ob die von ihm und seinem Mitarbeiter in einigen Fällen beobachtete sympathische unspezifische Umstimmung nicht auch gelegentlich von anderer Seite beobachtet werden wird.

Ich habe an anderer Stelle schon darauf hingewiesen, daß, abgesehen vom negativen Ergebnis unserer Kontrollversuche mit einer 100-fach so starken Dosis, die von Dold und Rados gewählte Versuchsanordnung noch nach einer anderen Richtung hin der Ergänzung bedarf.

Dold und Rados haben sich damit begnügt, bei der Reinjektion zwei sehr stark verdünnte Tuberkulinlösungen (1 : 100 000 und 1 : 1 000 000) anzuwenden. Von 11 so nachbehandelten Versuchstieren reagierten nach einer Inkubationszeit von 14 Tagen 9 positiv, eins fraglich und nur ein weiteres negativ. Auch bezüglich dieser beiden letzteren Versuche wird der „Umstimmungseffekt“ nur bedingungsweise als 0 angegeben. Die dahinter stehende Bemerkung: 100? und 0 (jedenfalls unter 100) läßt vielmehr annehmen, daß die Autoren geneigt sind, den Ausfall der Reaktion in diesen Fällen der allzu starken Verdünnung des Tuberkulins bei der Reinjektion zuzuschreiben. Jedenfalls blieb diese Frage unerörtert, und der Leser konnte den Eindruck gewinnen, daß bei der Anwendung weniger stark verdünnter Tuberkulinlösungen bei der Reinjektion, die Zahl der positiven Ergebnisse entsprechend größer gewesen wäre.

Es war daher schon mit Rücksicht darauf, daß alle unsere Versuche, wobei die 100-fache Menge des von uns gefundenen „normalen Entzündungstiters“ zur Reinjektion verwendet wurde, negativ ausfielen, fraglich, ob unter den durch die Sensibilisierung mit Krotonöl nach Dold und Rados angeblich veränderten Verhältnissen am zweiten Auge die Entzündungstitergrenze des Alttuberkulins überhaupt eine Verschiebung erlitten hat!

Was den „normalen Entzündungstiter“ des Alttuberkulins bei intralamellärer Injektion von 0,1 ccm bei Kaninchen anbelangt, so liegt dieselbe nach

Dold und Rados zwischen 1 : 1000 und 1 : 10 000,
Arisawa bei 1 : 100 (jedenfalls unter 1 : 1000),
Mir und Luciani genauer bei 1 : 750.

Dold (4, 1914) hat in Uebereinstimmung mit Arisawa für den großen Unterschied zwischen den von ihnen ermittelten „normalen Entzündungstitern“ den Umstand als mögliche Ursache angesehen, daß Arisawa stets frische Fläschchen zu seinen Versuchen verwendet hat, während das von Dold und Rados bei allen Versuchen verwandte Tuberkulin einem zwar uneröffneten, aber nicht frisch bezogenen Fläschchen entstammte.

Dold hält dies für um so wahrscheinlicher, als Arisawa durch Versuche feststellen konnte, daß ältere, in gut verkorkten Fläschchen im Eisschrank aufbewahrte Tuberkuline sich zuweilen toxischer als frische erwiesen.

Rados (6, 1915) hat sich neuerdings sogar dahin geäußert, daß den einzelnen Fläschchen des käuflichen Alttuberkulins bei intralamellärer Injektion am Kaninchenauge überhaupt eine verschieden starke entzündungserregende Wirkung zukäme. Er fand Fläschchen, aus welchen nur 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 100 deutliche Reaktion hervorrief, aber auch solche, welche noch in der Verdünnung von 1 : 1000 und 1 : 10 000 wirksam waren.

Davon habe ich mich vorläufig nicht überzeugen können, wenn auch infolge der ganzen Herstellungsweise und Wertbestimmung des Tuberkulins gewisse Schwankungen in dieser Hinsicht begreiflich wären. Ich fand vielmehr an bisher 8 verschiedenen Tuberkulinfläschchen, daß bei gut gelungener Einführung zwischen die Hornhautlamellen der „normale Entzündungstiter“ stets bei 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 500 bis

höchstens 1 : 750 lag und stärkere Verdünnungen unwirksam waren.

Da die genau dosierte intralamelläre Injektion im allgemeinen als kein leichter Eingriff bezeichnet werden muß und auch ohne einen gewissen, bei gutem Gelingen allerdings recht minimalen Reiz fürs Tierauge nicht vorgenommen werden kann, so dürfen naturgemäß nur solche Versuche verwertet werden, bei welchen es gelungen ist, die volle Menge zwischen die Hornhautlamellen einzuführen, ohne das Auge unnötig zu irritieren.

Ferner müssen natürlich bei diesen Versuchen alle Tiere ausscheiden, bei welchen auch nur die geringste Spur der Injektionsflüssigkeit in die vordere Kammer hineingeraten ist. Ebenso ist es durchaus empfehlenswert, zu vergleichenden Prüfungen nur jene Tiere zu verwenden, bei welchen die dem Flüssigkeitsdepot entsprechende grauweiße Quaddel an identische Hornhautstellen zu liegen kommt, was selbst geübten Experimentatoren nicht stets auf gleiche Weise gelingt. Die Lage des Depots zwischen den Hornhautschichten, ob oberflächlich oder tief, ist für den verursachten Reizzustand vielleicht auch nicht ganz nebensächlich; diesbezüglich dürfte jedoch bei den einzelnen Versuchstieren niemals eine vollständige Uebereinstimmung zu erzielen sein.

Beim Ansetzen der Verdünnungen muß natürlich eine möglichst frische, ad hoc angefertigte physiologische NaCl-Lösung benützt werden. Es ist bereits in einer früheren Arbeit (3, 1914) darauf hingewiesen worden, daß die genaue Einhaltung einer ganz bestimmten Ordnung bei der Reihenfolge der Injektionen gefordert werden muß, indem naturgemäß für alle Fälle zuerst die Tiere gespritzt werden, welche die stärkste Verdünnung erhalten. Aber selbst bei Einhaltung dieser Versuchsmaßregel muß vor jeder Injektion insbesondere den Kanülen peinlichste Aufmerksamkeit zugewendet werden. Entweder benützt man für jedes Auge eine besondere frisch sterilisierte Nadel (Arisawa) oder man zieht nach jeder Injektion vor der Aufnahme des neuen Materials einigemal hintereinander das noch bereitstehende, zum Auskochen dienende Wasser durch die Kanüle und Spritze und reinigt sie noch hinterher durch mindestens dreimaliges Durchspülen mit steriler physiologischer NaCl-Lösung.

Das einfache Hineinlegen in kochendes Wasser genügt jedenfalls nicht.

Beim Auskochen der Kanülen, namentlich wenn der Mandrin nicht eingeführt wurde, sammelt sich im Hohlraum gelegentlich etwas gefärbte Flüssigkeit an, die, zwischen die Hornhautlamellen injiziert, an und für sich schon entzündungserregend wirken kann. Wenn zum Auskochen

dem Wasser etwas Soda zugesetzt wurde, so sind vor Benützung der Kanüle auch die letzten Spuren davon durch wiederholte Durchspülung mit steriler physiologischer NaCl-Lösung zu entfernen. Bei überraschend einsetzenden starken Reizerscheinungen nach intralamellären Injektionen ist in erster Linie weniger auf bakterielle Verunreinigung als vielmehr an derartige chemisch wirksame Noxen zu denken.

Die peinliche Einhaltung der weitgehendsten Vorsichtsmaßregeln ist bei den vorliegenden Versuchen um so mehr angezeigt, weil der vollkommen unspezifische Reizzustand im Einzelfall nicht erkennen läßt, ob Versuchserfolg oder Versuchsfehler vorliegt.

Dazu kommt noch, daß es zuweilen recht geringfügige Reizerscheinungen sind (feine Trübung um den Stichkanal, Irishyperämie usw.), die noch als positive Reaktionen gedeutet wurden, so daß natürlich selbst bei vorsichtigstem Arbeiten an diesem ohnehin recht empfindlichen Organ alle derartigen Versuche nur dann vollen Anspruch auf Beweiskraft erheben dürfen, wenn sie nicht nur gelegentlich beobachtet werden können, sondern in einem genügend hohen Prozentsatz von allen geübten Untersuchern mit positivem Erfolg wiederholt werden können.

Nachdem bei unseren früheren Kontrollversuchen 2 genau nach Vorschrift von Dold und Rados behandelte Tiere negativ reagierten, sowie 13 weitere Versuchstiere, die sogar mit 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 10 000 (also mit 100-fach so starken Dosen) reinjiziert wurden, keine Spur der angegebenen Reaktion erkennen ließen, so blieb noch die Frage zu entscheiden, ob die Entzündungstitergrenze des Alttuberkulins bei dieser Art von Reizübertragungsversuchen überhaupt eine Verschiebung erfahren hat oder nicht.

Zu diesem Zweck wurde der folgende Versuch angesetzt, wobei zur Reinjektion statt 0,1 ccm 1 : 1 000 000 (Dold und Rados) die durchschnittliche normale Entzündungstitergrenze von 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 500 bis 1 : 1000 verwendet wurde.

Vorbehandlung: 6 normale, ausgewachsene Kaninchen (No. 1, 65, 70, 73, 74 und 4) erhielten nach Punktion der vorderen Kammer je 0,4 ccm Krotonöl in den Glaskörperraum des linken Auges. Typischer Verlauf mit Endausgang der schweren Panophthalmien in vollständige Destruktion des Auges, sowie Nekrose des orbitalen und periorbitalen Gewebes. Das zweite (rechte) Auge war bei allen Versuchstieren zur Zeit der Reinjektion vollkommen reizfrei.

Nachbehandlung: 14 Tage später Injektion von 0,1 ccm der im Protokoll angegebenen verschiedenen Tuberkulinverdünnungen zwischen die Hornhautlamellen des rechten Auges.

Verlauf s. Tabelle auf p. 392.

		Kaninchen No. 1	Kaninchen No. 65	Kaninchen No. 70	Kaninchen No. 73	Kaninchen No. 74	Kaninchen No. 4
Klinisches Bild des linken Auges am 14. Tage		Vollkommene Destruktion nach Panophthalmie. Nekrose der Lider. Haarausfall der Umgebung	Schwarz gefärbter nekrotischer Stumpf. Zerstörung des periorbitalen Gewebes	Gleich wie No. 1. Halsdrüsen stark angeschwollen	Gleich wie No. 1. Starke Beteiligung des periorbitalen Gewebes	Gleich wie No. 1	Gleich wie No. 1
		Alttuberkul. 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 500	Alttub. 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 750	Alttub. 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 1000	Alttub. 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 1000	Alttub. 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 1000	Alttub. 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 1000
Befund am rechten Auge	Nach 2 Std.:	Unvollständige Resorption, aber keine Reizung	Unvollständ. Resorption. Auge reizfrei	Unvollständ. Resorption. Auge reizfrei	Unvollständ. Resorption. Auge reizfrei	Unvollständ. Resorption. Auge reizfrei	Unvollständ. Resorption. Auge reizfrei
	Nach 5 Std.:	Fast alles resorbiert. Keine Reizung. Pupille reagiert glatt; eine Spur enger	Fast alles resorbiert. Auge reizfrei	Fast alles resorbiert. Auge reizfrei	Fast alles resorbiert. Auge reizfrei	Fast alles resorbiert. Auge reizfrei	Fast alles resorbiert. Auge reizfrei
	Nach 11 Std.:	Alles glatt resorbiert. Stichkanal. Geringe Bindehautreizung. Pupille reagiert	Alles resorbiert. Stichkanal. Auge reizfrei	Alles resorbiert. Stichkanal. Auge reizfrei	Alles resorbiert. Stichkanal. Auge reizfrei	Alles resorbiert. Stichkanal. Auge reizfrei	Alles resorbiert. Stichkanal. Auge reizfrei
	Nach 24 Std.:	Stichkanal. Auge reizlos	Stichkanal. Auge reizlos	Stichkanal. Auge reizlos	Stichkanal. Auge reizlos	Stichkanal. Auge reizlos	Stichkanal. Auge reizlos
	Nach 48 Std.:	Zarter Stichkanal. Auge reizlos	Nichts mehr	—	—	—	—
	Resultat:	Nach 5—11 Stunden minimale Reaktion	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ	Negativ

Zur gleichen Zeit wurden 2 ausgewachsene, normale Kaninchen (No. 2 und 3) zur Kontrolle der Entzündungstitergrenze am unvorbehandelten Tiere verwendet.

Kontrolltiere.

Kaninchen No. 2: linkes Auge 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 500,
rechtes „ 0,1 „ „ „ 1 : 750.
Kaninchen No. 3: linkes Auge 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 1000,
rechtes „ 0,1 „ „ „ 1 : 1000.

Verlauf.

Kaninchen No. 2.

Linkes Auge:

Alttuberkulin 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 500.

Nach 2 Stunden: Ein großer Teil resorbiert, keinerlei Reizung. Pupille reagiert.

Nach 5 Stunden: Fast alles resorbiert. Pupille etwas enger (4,5 mm horizontal), aber reagierend. Leichte Bindehautreizung.

Nach 11 Stunden: Alles glatt resorbiert. Zarter Stichkanal sichtbar. Pupille noch eine Spur enger; reagiert gut. Das Auge ist sonst vollkommen reizfrei.

Nach 24 Stunden: Zarter Stichkanal, sonst alles normal.

Nach 48 Stunden: Ganz zarter Stichkanal. Auge vollkommen reizlos.

Resultat: Nach 5—11 Stunden ganz leichte Reaktion.

Rechtes Auge:

Alttuberkulin 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 750.

Nach 2 Stunden: Zum größten Teil resorbiert, keinerlei Reizung. Pupille reagiert.

Nach 5 Stunden: Fast alles resorbiert. Pupille ebenfalls vielleicht eine Spur verengt (5,5 mm horizontal), reagiert aber prompt. Sonstige Entzündungserscheinungen fehlen.

Nach 11 Stunden: Alles glatt resorbiert. Zarter Stichkanal sichtbar. Das Auge ist vollkommen reizfrei.

Nach 24 Stunden: Zarter Stichkanal, sonst alles normal.

Nach 48 Stunden: Ganz zarter Stichkanal. Auge vollkommen reizlos.

Resultat: negativ.

Kaninchen No. 3.

Linkes Auge:

Alttuberkulin 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 1000.

Nach 2 Stunden: Vorgeschrittene Resorption. Pupillenweite 7,5 mm; Reaktion tadellos. Auge reizfrei.

Nach 5 Stunden: Fast alles resorbiert. Auge vollkommen reizfrei.

Rechtes Auge:

Alttuberkulin 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 1000.

Nach 2 Stunden: Vorgeschrittene Resorption. Pupillenweite 7,0 mm; Reaktion tadellos. Auge reizfrei.

Nach 5 Stunden: Fast alles resorbiert. Auch vollkommen reizfrei.

Nach 11 Stunden: Alles resorbiert, Stichkanal. Auge dauernd reizfrei.

Nach 24 Stunden: Zarter Stichkanal. Auge sonst normal.

Nach 48 Stunden: Ganz zarter Stichkanal.

Resultat: negativ.

Nach 11 Stunden: Alles resorbiert, Stichkanal. Auge dauernd reizfrei.

Nach 24 Stunden: Zarter Stichkanal. Auge sonst normal.

Nach 48 Stunden: Ganz zarter Stichkanal.

Resultat: negativ.

Aus den hier mitgeteilten Versuchen geht somit hervor, daß durch Zerstörung des einen Auges mittels Krotonöls die Entzündungstitergrenze des Alttuberkulins bei intralamellärer Injektion am zweiten Auge nicht nur die von Dold und Rados gefundene wesentliche Erhöhung (auf das 100-fache) vermissen läßt, sondern überhaupt nicht die geringste nachweisbare Verschiebung erlitten hat.

Es sind somit alle an diese Versuche geknüpften Schlußfolgerungen der Autoren unbewiesen:

1) die unspezifische entzündliche Reizübertragung von Auge zu Auge, wobei Krotonöl als Reiz und die Tuberkulininjektion als Indikator dient;

2) die Annahme, daß bei der von anderen Autoren beschriebenen Anaphylaxie am Auge die Spezifität gegenüber der nichtspezifischen entzündlichen Sensibilisierung zurücktrete;

3) die Uebertragung auf unsere Vorstellungen bezüglich der sympathischen Ophthalmie.

Was den letzten Punkt anbelangt, so ist noch zu erwähnen, daß das Krotonöl, in den Glaskörperraum eingeführt, eine ganz fulminant verlaufende Panophthalmie zur Folge hat. Es ist aber ein bekannter Lehrsatz der Augenheilkunde, daß gerade Augen, welche an einer allgemeinen Vereiterung zugrunde gingen, im Gegensatz zur schleichenden Iridocyclitis nach Verletzung (der sogenannten sympathisierenden Entzündung) das zweite Auge in der Regel vollkommen unbeteiligt lassen. Es wäre daher schon mit Rücksicht auf diesen Umstand bemerkenswert, wenn es gerade bei der Panophthalmie zuerst gelungen wäre, den noch immer ausstehenden strikten experimentellen Nachweis für die Möglichkeit der Reizübertragung von Auge zu Auge zu erbringen.

Dieser Einwand bleibt auch für den Fall bestehen, wenn die Autoren selbst ihrem Schlußsatz, wonach ihre Versuche

„uns dem Verständnis der sympathisch auftretenden Entzündungen, besonders auch der Ophthalmica sympathia, wesentlich näher bringen“, nunmehr keine weiter gehende Bedeutung beilegen sollten.

Schließlich sei, trotz des negativen Ausfalls meiner Kontrollversuche, auch noch auf den Umstand hingewiesen, daß die Autoren bei der Reinjektion (sie benützen selbst diesen Ausdruck) von 0,1 ccm der Alttuberkulinverdünnung 1 : 1 000 000 zum Teil recht starke Reaktionen beobachtet haben wollen.

Ein zehnmillionstel Kubikzentimeter der wirksamen Substanz ist eine Dosis, welche selbst für die feinsten biologischen Reaktionen als minimal bezeichnet werden muß. Beim Arbeiten mit so infinitesimalen Quantitäten und der in der Umgebung des Eingriffes selbst verursachten lokalen Entzündung als einzigem Maßstab für den Erfolg, erscheint mir die Injektion zwischen die Hornhautlamellen infolge der unvermeidlichen Gewebsläsion bei der Einführung, sowie der anderen, weiter oben erörterten Fehlerquellen bei der Entscheidung so wichtiger Fragen überhaupt als keine geeignete Methode.

Zusammenfassung.

Nach Zerstörung des einen Auges mittels Krotonöls ist der Entzündungstiter des Alttuberkulins, geprüft nach 14-tägigem Intervall am zweiten Auge, vollkommen unverändert und ebenso hoch, wie beim unvorbehandelten Tier (0,1 ccm der Verdünnung 1 : 750), im Gegensatz zu den Angaben von Dold und Rados, die eine wesentliche Erhöhung (bis zu 0,1 ccm der Verdünnung 1 : 1 000 000) festgestellt haben wollen.

Literatur.

1) Dold, H., und Rados, A., Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 20, 1914, p. 273.
2) v. Szily, A., Die Anaphylaxie in der Augenheilkunde, Stuttgart (Enkes Verlag) 1914.
3) Arisawa, U., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 22, 1914, p. 79.
4) Dold, H., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 22, 1914, p. 227.
5) v. Szily, A., und Luciani, Klin. Monatsbl. f. Augenheilkunde, Juliheft 1915.
6) Rados, A., Archiv f. Ophthalm., Bd. 89, 1915, Heft 3, p. 562.
7) Friedberger, E., und Mita, S., Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 10, 1911, p. 216.

[Aus dem Hygienischen Institute der Deutschen Universität Prag.]

Ueber das Verhalten der Cholerasubstanz im immunen Tierkörper.

Von Prof. Dr. **Oskar Bail.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 23. Juli 1915.)

Während der ganze Verlauf der natürlichen Cholerainfektion bei Menschen, wie der der künstlichen des in die Bauchhöhle geimpften Meerschweinchens durchaus für die Wirkung kräftiger Giftstoffe spricht, entbehrt die im Tierversuche so mühelos aktiv und passiv zu erteilende Immunität gänzlich eines antitoxischen Anteils. Mit welchen Mitteln man immer die Immunität herbeiführt, stets bilden sich, und zwar sehr leicht und in starker Menge, Bakteriolysine, Agglutinine, Präzipitine, also Gegenkörper, welche zwar auf die Cholerasubstanz im geformten wie im gelösten Zustande einzuwirken vermögen, nicht aber in dem Sinne, daß sie die Giftwirkung der darin vorhandenen Endotoxine zu beheben vermöchten. Ueberblickt man die Versuche, zu einer Antitoxinbildung gegen Cholera zu gelangen (Ransom, Metschnikoff, Roux und Taurelli-Salimbeni, Macfadyan, Besredka, R. Kraus), so bleibt nur das Eingeständnis eines sehr dürftigen oder bestrittenen Ergebnisses[1]).

Wer aber einen menschlichen Cholerafall beobachtet, für den kann es beim ersten Anblicke nicht zweifelhaft sein, daß nur ein möglichst hochwertiges antitoxisches Serum für die Heilung von Wert sein kann. Selbst wenn man zugeben wollte, daß bakterizide Wirkungen im Darmkanal überhaupt zur Wirkung gelangen können, für Heilbestrebungen der ausgebrochenen Krankheit kann nur die Beseitigung der so stürmisch in Erscheinung tretenden Vergiftung in Frage kommen. Will man daher nicht gänzlich auf die Anwendung einer Sero-

1) Vgl. dazu: Carrière und Tomarkin, diese Zeitschr., Bd. 4, p. 30.

therapie der Cholera verzichten, so müssen die Bestrebungen zur Erlangung wirksamer Antitoxine trotz der bisherigen zweifelhaften Erfolge fortgesetzt werden. Inwieweit die aktive, gerade gegenwärtig in großem Maßstabe zur Anwendung gelangte Immunisierung auch von antitoxischem Werte ist, wird sich statistisch erweisen lassen: die Heilbestrebungen werden durch die vorbeugenden Impfungen natürlich nicht berührt.

Als erste Bedingung, um Fortschritte zu erzielen, ist die Frage zu beantworten, warum die Einspritzung der Giftstoffe nicht zur Ausbildung von Gegengiften im Serum führen kann. Zweifellos besitzen wir ja das Choleragift, mag auch die Form, in der es in abgetöteten oder lebenden Vibrionen oder Auszügen solcher vorliegt, nichts weniger als rein sein. Aber andere, echte Toxine besitzen wir ebenfalls nicht rein, oder wir können sie in der Form, wie wir sie eben zur Verfügung haben, mit allen möglichen anderen Dingen mischen: stets erhalten wir durch geeignete Vorbehandlung Antitoxine. Bei Cholera aber — und anderen halbparasitischen Bakterien ebenso — haben selbst die sorgfältigst hergestellten Lösungen von Endotoxinen nur zweifelhafte Antiendotoxine ergeben.

Die bakteriolytischen und sonstigen Gegenkörper, die auf Einbringung der geformten oder gelösten Cholerasubstanz entstehen, beeinflussen zwar sichtlich, je nach ihrer Art verschieden, die Form, in welcher man sie auf Cholerasubstanz einwirken läßt, aber mit dieser Umformung (Körnchenbildung und Zusammenballung bei geformter, Ausfällung bei gelöster Substanz) ist eine Aenderung der Giftwirkung derselben niemals verbunden. Nur Pfeiffer und Bessau (Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 56, H. 3/4) nehmen an, daß Bakteriolysine (besser gesagt, wohl die Gesamtheit der in einem Choleraserum vorhandenen Gegenkörper), wenn sie nur in genügender Stärke vorhanden sind und entsprechend einwirken können, auch eine Zerstörung der Giftwirkung durch fermentativen Abbau herbeizuführen vermögen.

Bei der immerhin auffälligen Einwirkung der bakteriolytischen Seren auf die Cholerasubstanz bleibt es auffällig, daß die Giftwirkung derselben unbeeinflußt bleibt. Man ist

versucht, anzunehmen, daß bei reichlicher Serumanwendung alles, was von Cholerasubstanz gelöst wird oder bei Endotoxinversuchen schon gelöst eingeführt wird, durch Präzipitation verändert, mindestens in der Resorption verzögert würde. Davon merkt man aber nichts, oder nur bei sehr großen Serumgaben etwas; selbst die Einspritzung fertiggebildeter Präzipitate löst Vergiftungserscheinungen aus.

Es muß daher angenommen werden, daß bei einem mit Cholera infizierten und vergifteten Tiere, gleichgültig ob dabei Bakteriolyse durch Serumanwendung stattgefunden hat oder nicht, Cholerasubstanz frei in den Säften nachweisbar sein wird. Zum Nachweise kann die Komplementbindungsmethode verwendet werden.

Zu den Versuchen wurde ein Cholerastamm No. 26 verwendet, der im November aus einem Falle der galizischen Heeresepidemie in Neu-Sandetz rein gezüchtet war und zu Beginn der Versuche höchstens 4 Generationen auf Agar durchgemacht hatte. Seine Infektiosität war anfangs mäßig und lag bei etwa $^1/_2$ Oese für Meerschweinchen von 200 g. Sie stieg rasch an, doch hatte die Verfolgung für die Versuche, bei denen stets größere Vibrionenmengen in die Bauchhöhle eingebracht wurden, kein unmittelbares Interesse.

Meerschweinchen a und b erhielten je $^1/_2$ Agarkultur ip., waren nach 3 Stunden bereits deutlich krank; jetzt erhielt a 3 ccm Kochsalzlösung, b ebensoviel mit 0,5 eines hochwertigen, aus dem Serotherapeutischen Institute Wien bezogenen Choleraserums intraperitoneal. Das auch für die folgenden Versuche verwendete Serum war als „agglutinierendes Choleraserum" bezeichnet und trug den Wertvermerk 1:4000; in Wirklichkeit brachte es den Stamm 26 bis zur Verdünnung 1:10000 in kürzester Zeit zur vollständigen Zusammenballung. Bei Zusatz größerer Serummengen zu starken Choleraaufschwemmungen trat fast sofort unter den Augen des Beobachters stärkste Haufenbildung mit baldiger vollständiger Klärung ein.

Beide Tiere wurden immer elender und starben 6 Stunden nach der Impfung; ein Einfluß der Serumgabe auf den Krankheitsverlauf war nicht zu merken. Das Tier a hatte etwa 8 ccm trüben Exsudates mit massenhaften Vibrionen, deren „tierischer" Zustand an der Kürze und verhältnismäßigen Dicke gegenüber den in Kulturen vorhandenen schlanken, gut gekrümmten Stäbchen sofort kenntlich war. Tier b lieferte etwa 12 ccm eines wenig trüben, kleine Flöckchen enthaltenden Exsudates, in dem nur sehr zerstreut Körnchen sichtbar waren. Zwischen den Därmen fanden sich aber kleine weiße, weiche, eiterähnliche Flöckchen, die im Ausstriche ganz aus gequollenen Vibrionen und Granula bestanden, ohne mehr als

einzelne Leukocyten, die sich auch in der Flüssigkeit beider Tiere nur sehr spärlich vorfanden. Kulturen aus dem Herzblute beider Tiere waren positiv, bei a stärker als bei b. Die Exsudate wurden sofort sorgfältig zentrifugiert und ebenso wie die ausgeschnittenen, in steriler Kochsalzlösung abgewaschenen Milzen über Nacht auf Eis aufbewahrt. Am nächsten Morgen wurden die Exsudate $^1/_2$ Stunde auf 54—56° erwärmt, die Milzen in je 4 ccm NaCl-Lösung fein verrieben und zum Komplementbindungsversuche verwendet; zur Kontrolle diente Exsudat eines normalen Tieres, welches sterile Bouillon in die Bauchhöhle erhalten hatte, in zentrifugiertem Zustande, ebenso die Milz des Tieres (c).

Tabelle I.

Kplt.	Imm.-serum	Reagens	Exsudat a	Exsudat b	Normal-exsudat	Milz a	Milz b	Milz c
0,06	0,075	0,5	0	0	++++	—	—	—
„	„	0,25	0	0	++++	0	+	+
„	„	0,1	0	Sp.	++++	+	++++	++++
„	„	0,02	++	++	++++	++++	++++	++++
„	0	0,5	++++	++++	++++	—	—	—
„	0	0,25	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Die üblichen Kontrollen verhielten sich ordnungsgemäß.

Mindestens im Exsudate beider Tiere ist somit durch Komplementbindung freie reaktionsfähige Cholerasubstanz nachweisbar; die große Menge des dem Tiere b etwa 3 Stunden vor dem Tode einverleibten Immunserums hat den Uebertritt derselben nicht verhindern können, die Cholerasubstanz ist frei, also auch wohl resorbierbar, und damit ist bereits erklärt, daß die Vergiftung nicht verhindert werden konnte. Recht auffällig ist, daß das Exsudat b nicht an sich komplementbindend wirkte; denn in demselben muß doch zeitweise ein Ueberschuß von Serum vorhanden gewesen sein, das mit der schon vor der Serumeinspritzung frei gewordenen oder der später frei werdenden Cholerasubstanz ein komplementbindendes System ergeben müßte.

Tabelle II.

Meerschweinchen c und d erhalten 1 Agarkultur Cholera, nach 3 Stunden erhält c 3 ccm NaCl-Lösung allein, d mit 0,75 ccm Choleraimmunserum intraperitoneal; nach 6 Stunden ist c tot, d sterbend. Ersteres hat etwa 8 ccm trübes Exsudat mit massenhaften tierischen Vibrionen, letzteres 10 ccm wenig trüber Flüssigkeit mit sehr spärlichen Leukocyten, Körnchen und gequollenen Vibrionen; eiterähnliche Flöckchen auf den Därmen, sowie

Netzausstriche zeigen dichtgedrängte Granula und dicke Vibrionen, bei wenig Zellen. Exsudate zentrifugiert, mit dem Blute[1]) und den gewaschenen Milzen der beiden Tiere über Nacht auf Eis aufgehoben, Serum und Exsudate $^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt, Milzen in je 4 ccm NaCl-Lösung fein verrieben.

Kplt.	Imm.-serum	Reagens	Ex-sudat c	Ex-sudat d	Serum c	Serum d	Milz c	Milz d
0,06	0,075	0,5 (0,3)	0	0	++++	++++	0	0
„	„	0,25 (0,15)	0	0	—	—	0	0
„	„	0,1 (0,05)	0	Sp.	—	—	Sp.	0
„	„	0,05	0	Sp.	—	—	—	—
„	0	0,5 (0,3)	++++	++++	++++	++++	++++	++++
„	0	0,25 (0,15)	++++	++++	—	—	++++	++++

Die in der Rubrik „Reagens" eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die verwendeten Mengen der Milzverreibung; für alle Tabellen bedeutet 0 vollständige Hemmung der Hämolyse, +, ++, +++, ++++ verschiedene Grade der Hämolyse bis zu vollständiger klarer Lösung, Sp. spurenweise Hämolyse, erst an der Rotfärbung der überstehenden Flüssigkeit nach Absatz der Blutkörperchen erkennbar.

Man bemerkt die Anwesenheit freier, reaktionsfähiger Cholerasubstanz bei beiden Tieren so gut wie unterschiedslos in den Exsudaten, wie in der Milz; dabei fehlt wieder Eigenhemmung derselben durchaus. In das Serum ist reaktionsfähige Bacillensubstanz bei keinem Tiere übergegangen.

Da sich nun nach den Versuchen von Pfeiffer und Friedberger, sowie von Bail nachweisen läßt, daß beim Zusammentreten von Vibrionen und Serum Choleraimmunkörper sowohl im Tierkörper als im Reagenzglasversuche frei und wirksam werden, so liegt der eigenartige Fall vor, daß zwei Stoffe von anscheinend so hoher Verwandtschaft, daß ihre Vereinigung sehr rasch und unter auffälligen Erscheinungen erfolgt, nach kurzer Zeit wieder in ihrer ursprünglichen Form (soweit man das bisher zu beurteilen imstande ist) vorliegen. Daß unter Umständen in Exsudaten sowohl Cholerasubstanz als auch Immunkörper nebeneinander, aber unverbunden bestehen können, zeigt der folgende Versuch mit den gleichen Exsudaten der Tabelle II.

1) aus den angeschnittenen Herzen der Tiere.

Tabelle III.

Die gleichen Exsudate c und d wie im vorigen Versuche, 2 Tage in Eis aufbewahrt. Zum Versuche diente überdies ein Choleraextrakt, hergestellt aus 1 Agarkultur in 7,5 ccm NaCl-Lösung, 1 Stunde auf 60° erhitzt, dann zentrifugiert.

Kplt.	Immunserum	Cholera-extrakt	Reagens	Exsudat c	Exsudat d	Kontrollen
0,06	0,05	—	0,3	0	0	—
"	"	—	0,15	0	0	—
"	—	—	0,3	++++	++++	—
"	—	—	0,15	++++	++++	—
"	—	0,1	0,3	++++	+	—
"	—	0,025	0,3	++++	++	—
"	—	0,1	0,15	++++	0	—
"	—	0,025	0,15	++++	++	—
"	0,05	0,1	0	—	—	0
"	—	"	0	—	—	+++
"	0,05	0,025	0	—	—	Sp.
"	—	"	0	—	—	++++
"	0,05	0	0	—	—	++++

Ohne jeden Zweifel sind in diesem Versuche beide reaktionsfähigen Stoffe vorhanden gewesen, ohne, wie die fehlende Selbsthemmung beweist, miteinander in Verbindung zu treten. Es muß aber bemerkt werden, daß im allgemeinen die Komplementbindung keine geeignete Methode ist, um kleine Mengen derart freien Immunserums aufzufinden; in der Regel verrieten sich Spuren davon nur durch eine zeitliche, aber nicht vollständige Hemmung der Hämolyse. Hingegen kann man jederzeit in solchen Exsudaten mit Hilfe von normalen Vibrionen, welche sensibilisiert werden, Immunkörper wirksam nachweisen (vgl. dazu Bail und Tsuda, diese Zeitschr., Bd. 1, p. 546).

Sehr gut läßt sich die Anwesenheit von Cholerasubstanz bei Tieren nachweisen, welche größere Mengen sensibilisierter und entsprechend von Serumüberschüssen befreiter Vibrionen erhalten haben.

Tabelle IV.

2 Agarkulturen werden unter Zusatz von 0,4 ccm Immunserum in 6 ccm NaCl-Lösung verteilt und sofort zu 4 und 2 ccm in 2 Gefäße gebracht. Die fast augenblicklich vollendete Agglutination wird 1/2 Stunde lang im Wasserbade gehalten, sodann zentrifugiert, einmal mit 10 ccm NaCl-Lösung gewaschen, die kleinere Vibrionenmenge in 8 ccm Normal-

exsudatflüssigkeit (von einem mit steriler Bouillon vorbehandelten Tiere, zellfrei gemacht) aufgeschwemmt und so lange, als das mit der größeren Vibrionenmenge injizierte Meerschweinchen lebte, bei 37° gehalten. Das Versuchstier zeigte nach $2^1/_2$ Stunden Peritonitis, verfiel sehr schnell und mußte nach $3^1/_2$ Stunden verblutet werden. Es hatte 6 ccm wenig trübes, leukocytenarmes Exsudat mit sehr vereinzelten Körnchen. In eiterähnlichen Flöckchen am Netz und an den Därmen waren Granula und gequollene Vibrionen in großer Menge angehäuft. Exsudat, künstliches Exsudat und Serum wurden $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt, die Milz des Tieres in 4 ccm NaCl-Lösung fein verteilt. Choleraextrakt wie bei Tabelle III.

Kplt.	Immunserum	Extrakt	Reagens	Exsudat	Künstl. Exsudat	Serum	Milz
0,05	0,05	—	0,75 (0,4)	0	0	+	0
„	„	—	0,5 (0,2)	0	0	—	Sp.
„	„	—	0,25 (0,05)	+	0	—	+++
„	„	—	0,1	++++	++	—	—
„	—	—	0,75 (0,4)	+++	0	++++	++++
„	—	—	0,5 (0,2)	++++	+	—	++++
„	—	—	0,25 (0,05)	++++	++++	—	++++
„	—	0,1	0,75 (0,4)	++	++	+++	+++
„	—	„	0,5 (0,2)	+++	++	—	++++
„	—	„	0,25 (0,05)	++++	++++	—	++++

Die eingeklammerten Zahlen beziehen sich auf die Menge der verwendeten Milzaufschwemmung. Choleraextrakt mit Immunserum hemmte vollständig, die Kontrollen mit Extrakt und Immunserum allein ergaben vollständige Hämolyse.

Es ist somit im Exsudate und Milz reichlich, im Serum wenig Cholerasubstanz nachgewiesen; eine Eigenhemmung besitzt das Exsudat nur in sehr geringem Grade, Milz und Serum überhaupt nicht. Der Nachweis von wirksamem Immunserum im Körper des Versuchstieres kann zwar ebenfalls als erbracht angesehen werden, doch ist die Menge davon jedenfalls nur sehr gering. Auf die Erscheinung, daß auch außerhalb des Tierkörpers aus sensibilisierten Vibrionen freie Cholerasubstanz zu gewinnen ist („künstliches Exsudat"), wird noch weiter unten einzugehen sein.

Bei der starken Wirksamkeit des Immunserums ist eine Vermehrung der Vibrionen, von welcher auch die Beobachtung nichts erkennen läßt, ausgeschlossen; was also von Cholerasubstanz durch den Bindungsversuch nachgewiesen wird, muß von der Einspritzung herrühren. Das gleiche läßt sich durch

Anwendung von abgetöteten Vibrionen und Immunserum nachweisen.

Tabelle V.

Die Abtötung erfolgt nach Pfeiffer mittels Chloroformdämpfen. Das Meerschweinchen a erhält 1 Agarkultur, das andere b ebensoviel mit der sehr großen Menge von 1 ccm Immunserum. Nach 4 Stunden waren beide Tiere schwer peritonitisch und krank und wurden verblutet. Beide enthielten gegen 10 ccm wenig trüber, aber mit vielen kleinen Flöckchen versehener Flüssigkeit; die Flöckchen bestehen aus kleinen Häufchen von Leukocyten, Körnchen oder Vibrionen waren kaum zu finden, auch in Ausstrichen vom Netze nicht. Die klar zentrifugierten Exsudate und die Seren beider Tiere wurden $^{1}/_{2}$ Stunde auf 56° erwärmt, die Milzen in je 4 ccm NaCl-Lösung fein verrieben.

Kplt.	Immunserum	Choleraextrakt	Reagens	Exsudat a	Exsudat b	Serum a	Serum b	Milz a	Milz b
0,05	0,04	—	0,6, 0,8, 0,5	0	0	++++	0	+	++
„	„	—	0,3, 0,4, 0,25	0	Sp.	++++	++	++++	++++
„	„	—	0,15, — 0,1	0	+	—	—	++++	++++
„	—	—	0,6, 0,8, 0,5	++++	++	++++	+++	++++	+++
„	—	—	0,3, 0,4, 0,25	++++	++++	++++	++++	++++	++++
„	—	0,1	0,6, 0,8, 0,5	++++	+	++++	+	++++	+
„	—	„	0,3, 0,4, 0,25	++++	++	++++	++	++++	++
„	—	„	0,15, — 0,1	++++	++++	—	—	++++	++++

Die nebeneinander gestellten Zahlen in dem Abschnitte Reagens bedeuten die Mengen, in denen Exsudate, Seren und Milzen angewendet wurden; die Kontrollen verliefen regelrecht.

Es unterliegt kaum einem Zweifel, daß im Körper des mit einem Serumüberschuß behandelten Meerschweinchens b sowohl Cholerasubstanz, als deren Verbindung mit Immunserum, als dieses letztere frei nebeneinander vorhanden waren. Für die Gegenwart des letzteren spricht die starke Hämolysehemmung, welche Exsudat, Serum und Milz mit Choleraextrakt zusammen geben; die Anwesenheit der gelösten Cholerasubstanz ist aus dem Zusatze von 0,04 ccm Immunserum klar zu erkennen, wobei die Konzentration in der Milz am geringsten ist. Daß auch die fertige Verbindung Cholerasubstanz + Immunkörper vorhanden war oder vielleicht erst während des Versuches außerhalb des Tierkörpers entstanden ist, beweist die, wenn auch nicht starke, so deutliche Eigenhemmung aller Körperteile.

Nimmt man weniger Immunserum, so bleibt nur Cholerasubstanz nachweisbar, die Eigenhemmung sowie die mit Choleraextrakt zusammen verschwindet.

Tabelle VI.

Der Versuch ist insofern erweitert, als untersucht werden sollte, ob die Anwesenheit von viel Leukocyten in der Bauchhöhle des Versuchstieres eine Aenderung des Ablaufes bedingen kann. Das eine Tier a erhielt daher 12 Stunden vor dem eigentlichen Versuche eine intraperitoneale Einspritzung steriler Bouillon. Dann wurde ihm gleichzeitig mit einem normalen Kontrolltiere die Hälfte einer Aufschwemmung von 2 durch Chloroform abgetöteten Agarkulturen eingespritzt, welche $^1/_2$ Stunde früher einen Zusatz von 0,8 ccm Immunserum erhalten hatte; auf jedes Tier entfiel somit 0,4 ccm Serum. Beide Tiere wurden nach 4 Stunden, schwer krank und peritonitisch, aber noch nicht agonisierend, verblutet. Tier a enthielt etwa 9 ccm trübes Exsudat mit massenhaften Leukocyten, aber ohne Körnchen und Vibrionen; Tier b lieferte 4 ccm fast klaren Exsudates mit mäßig viel Leukocyten, ebenfalls ohne Vibrionen und Körnchen. Die zentrifugierten Exsudate und Seren wurden $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt.

Kplt.	Immunserum	Choleraextrakt	Reagens	Exsudat a	Exsudat b	Serum a	Serum b
0,05	0,04	—	0,6, 0,8	0	0	+	+
„	„	—	0,3, 0,4	Sp.	0	+++	+++
„	„	—	0,15, —	++	+	—	—
„	—	—	0,6, 0,8	++++	++++	++++	++++
„	—	0,1	0,6, 0,8	++++	+	+++	++++
„	—	„	0,3, 0,4	++++	+++	++++	++++
„	—	„	0,15, —	++++	++++	—	—

Die Kontrollen verliefen regelrecht. In der Tabelle nicht angeführt ist der Versuch mit den aus Exsudat a abzentrifugierten, in 4,5 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmten Leukocyten, die weder an sich noch mit Immunserum oder Choleraextrakt Hemmung der Hämolyse ergaben.

Unter Umständen läßt sich sogar freie Cholerasubstanz in Tieren nachweisen, die unter dem Einflusse von Immunserum die Infektion überstehen, bei denen also die Menge der Cholerasubstanz zu gering ist, um eine tödliche Giftdosis zu enthalten.

Tabelle VII.

Ein Meerschweinchen erhielt tierische Vibrionen aus dem Peritoneum eines an Infektion gestorbenen anderen Tieres in der Menge, daß sie der Trübung nach etwa $^1/_2$ kleinen Oese Kultur entsprach. Vorher war 0,4 ccm Immunserum der Aufschwemmung zugesetzt worden. Eine Entnahme nach $1^1/_2$ Stunden ergab in dem klaren Exsudate weder Vibrionen noch Granula.

Das Tier wurde nach 7 Stunden ohne besondere Krankheit verblutet, Exsudat mit mäßig viel Leukocyten, ohne Vibrionen, und Serum klar zentrifugiert und inaktiviert, überdies Milz und ungefähr gleich große Stücke von Leber und Lunge in je 4 ccm NaCl-Lösung fein verrieben.

Kplt.	Immunserum	Reagens	Exsudat	Serum	Milz	Leber	Lunge
0,05	0,04	1,2	—	0	—	—	—
"	"	0,6	+	Sp.	++	0	++++
"	"	0,3	—	—	++++	+	++++
"	"	0,15	—	—	++++	++++	++++
"	—	1,2	—	+	—	—	—
"	—	0,6	++++	+++	++++	Sp.	++++
"	—	0,3	—	—	++++	+++	++++
"	—	0,15	—	—	++++	++++	++++

Die Kontrollen verliefen regelrecht.

Zweifellos ist im Exsudate sehr deutlich, ebenso im Serum, wenig sicher in den Organen Cholerasubstanz nachweisbar. Ob die zweifellose Eigenhemmung des Serums und der Leberaufschwemmung nur durch die verwendete große Menge des Reagens oder durch die Verbindung Cholerasubstanz + Immunkörper bedingt ist, bleibt zweifelhaft.

Bereits Tabelle IV enthält einen Versuch, der darauf hindeutet, daß das Freiwerden der Cholerasubstanz aus ihrer Verbindung mit Immunserum sich nicht nur im Tierkörper, sondern auch im Glasversuche erweisen läßt. Dieser Feststellung waren weitere Versuche gewidmet.

Tabelle VIII.

3 Agarkulturen Cholera werden in 6 ccm NaCl aufgeschwemmt, mit Chloroform getötet, mit 1 ccm Immunserum versetzt und sofort in 2 Teile zu je 2 und einen zu 3 ccm geteilt. Nach $^1/_2$-stündigem Aufenthalte im Wasserbade von 37° werden die stärkst zusammengeballten Vibrionen abzentrifugiert und 2mal gewaschen; das erste Waschwasser agglutinierte bis 1 : 100 (weiter nicht geprüft) in kurzer Zeit. Ein Teil der Vibrionen aus 2 ccm Aufschwemmung wird in 4 ccm Normalexsudatflüssigkeit (von einem mit Bouillon vorbehandelten Tiere), der andere mit ebensoviel NaCl-Lösung 7 Stunden, d. h. so lange bei 37° belassen, als das mit dem letzten Vibrionenanteil (von 3 ccm Aufschwemmung) intraperitoneal injizierte Meerschweinchen am Leben gelassen wurde. Es war zur Zeit der Verblutung schwer krank. Das Tier enthielt etwa 7 ccm wenig trübes Exsudat mit vereinzelten Körnchen. Exsudat sowie die beiden Extrakte aus den sensibilisierten Vibrionen (I mit Exsudatflüssigkeit, II mit NaCl-Lösung) wurden zentrifugiert und $^1/_2$ Stunde auf 56° erwärmt.

Kplt.	Immunserum	Choleraextrakt	Reagens	Exsudat	Serum	Extrakt I	Extrakt II
0,05	0,04	—	0,6 (0,8)	0	++	0	0
,,	,,	—	0,3	0	—	0	0
,,	,,	—	0,15	Sp.	—	0	Sp.
,,	—	—	0,6 (0,8)	++++	++++	++++	++++
,,	—	0,1	0,6 (0,8)	++++	++++	++++	++
,,	—	,,	0,3	++++	—	++++	++++

Die eingeklammerte Zahl (0,8) bezieht sich auf die Menge des verwendeten Serums. Die Kontrollen verliefen regelrecht.

Sehr klar geht aus dem Versuche hervor, daß auch außerhalb des Tierkörpers stark sensibilisierte Vibrionen sowohl an tierische Flüssigkeit wie an einfache NaCl-Lösung Cholerasubstanz in Menge abgeben. Dabei tritt eine Selbsthemmung der erhaltenen „Extrakte" nicht hervor, wohl aber macht der Befund bei Extrakt II wahrscheinlich, daß in Spuren auch Immunserum abgegeben wird, wie es auf andere Weise (durch Sensibilisierung normaler Vibrionen) leicht nachzuweisen ist.

Aber nicht nur aus agglutinierten Vibrionen, sondern auch aus Präzipitaten, also dem Ergebnisse der Immunserumwirkung auf gelöste Bakteriensubstanz, läßt sich die letztere nachweisbar wieder freimachen.

Tabelle IX.

1 Agarkultur Cholera wird in 8 ccm NaCl-Lösung mit 1 ccm Immunserum aufgeschwemmt, ebenso werden 8 ccm Choleraextrakt (2 Agarkulturen in 15 ccm NaCl-Lösung auf 60° erhitzt, zentrifugiert) mit 1 ccm Immunserum versetzt. Die nach 1 Stunde bei 37° entstandene Vibrionenagglutination bzw. Präzipitat wurden 2mal mit NaCl-Lösung gewaschen und in je 5 ccm Normalexsudatflüssigkeit erst 2 Stunden bei 42°, dann über Nacht auf Eis gehalten und zentrifugiert. Zur Kontrolle der etwaigen Eigenhemmung wurde unveränderte Normalexsudatflüssigkeit verwendet.

Kplt.	Immunserum	Reagens	Bacillenextrakt	Präzipitatextrakt	Normalexsudat
0,05	0,04	0,6	0	0	—
,,	,,	0,3	0	0	—
,,	,,	0,15	Sp.	Sp.	—
,,	—	0,6	++++	++++	++++
,,	—	0,3	++++	++++	++++

Die Kontrollen verliefen regelrecht.

Tabelle X.

8 ccm Choleraextrakt wurden mit 16 Tropfen Immunserum versetzt, das rasch entstehende Präzipitat (1/2 Stunde 37°) wurde zentrifugiert, 2mal

gewaschen und mit 3 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 42° gehalten; der erhaltene Extrakt wurde neuerlich zentrifugiert.

Kplt.	Immunserum	Präzipitatextrakt	
0,05	0,05	0,7	0
„	„	0,35	Sp.
„	—	0,7	++++
„	—	0,35	++++

Präzipitate aus gelöster Cholerasubstanz verhalten sich somit geradeso, wie sensibilisierte Vibrionen, und geben auch außerhalb des Tierkörpers mit Leichtigkeit nachweisbare Cholerasubstanz aus deren früherer Verbindung an jede Flüssigkeit ab. Daß man aus Präzipitaten auch Immunserum in wirksamer Form wiedererhalten kann, ist bekannt; mittels der Komplementbindungsmethode war es nicht immer nachweisbar, in der Regel nur dann, wenn Serum bei der Präzipitation in stärkerem Ueberschusse angewendet worden war.

Trotz des großen Vereinigungsbestrebens, welches zwischen Cholerasubstanz in ihren verschiedenen Formen und Choleraimmunkörpern besteht, ist die oft unter sehr auffälligen Erscheinungen entstehende Verbindung beider mindestens teilweise von größter Unbeständigkeit, und in kurzer Zeit lassen sich beide Anteile der entstandenen Verbindung wieder in freier, wirksamer Form nachweisen. Die genauere Untersuchung dieses Vorganges, namentlich auch in quantitativer Hinsicht, dürfte bei besserer Ausbildung der Methodik und in ruhigeren Zeiten, als es die gegenwärtigen sind, einen anziehenden Gegenstand immunochemischer Forschungen bilden[1]).

Vorläufig von größerem Interesse sind die praktischen Folgerungen, die sich für die Anwendung der Choleraserumtherapie ergeben. Daß die Cholerasubstanz das eigentümliche Choleragift darstellt oder doch zu ihm in allerengster Beziehung steht, erscheint bewiesen, unbeschadet dessen, daß gelegentlich auch noch andere Giftstoffe sich ausbilden können (z. B. bei den El Tor-Vibrionen u. a. nach R. Kraus). Die auf die Vorbehandlung mit Cholera entstehenden Gegenkörper

1) Vgl. dazu Pfeiffer und Bessau (Centralbl. f. Bakt., I. Abt., Bd. 56, p. 381 ff.), welche bereits feststellten, daß bei Berührung von Typhusbacillen und Immunserum die obenstehende Flüssigkeit giftig, der Bodensatz verhältnismäßig ungiftig werden kann.

könnten sehr wohl außer ihrer bakteriolytischen, präzipitierenden usw. Fähigkeit auch eine antitoxische haben, in dem Sinne, daß das Produkt der Vereinigung von Gegenkörper und Cholerasubstanz auch entgiftet wäre, wenn die Vereinigung beständig bliebe. Daraus, daß sie es nicht ist, daß sich innerhalb wie außerhalb des Tierkörpers sofort wieder Cholerasubstanz mit anscheinend gegen früher unveränderten Eigenschaften abspaltet, erklärt sich ohne weiteres das Versagen der Serotherapie, bei Anwesenheit der hinreichenden Menge von Cholerasubstanz im Körper. Es handelt sich daher durchaus nicht darum, neue, rein antitoxische Seren herzustellen; das dürfte nach den so zahlreichen bisherigen Untersuchungen ganz unmöglich sein, und jede Form, in welcher Endotoxine der Vibrionen gewonnen werden können, wird immer nur ein Antigen für bakteriolytische usw. Immunkörper darstellen. Diese dürften aber auch antitoxisch wirken, wenn es nur gelingt, ihrer Verbindung mit der Vibrionensubstanz das Merkmal der Beständigkeit zu verleihen: nicht neuer Seren bedarf es, sondern nur einer Verbesserung der alten.

In diesem Sinne kann man der Anschauung von Pfeiffer und Bessau, daß bakterizide Seren mit guter therapeutischer Wirkung wohl denkbar sind, vollständig zustimmen, und es läßt sich zeigen, daß auch die bereits vorhandenen einiges leisten können, sobald sie in einem sehr starken Ueberschusse angewendet werden. Das ist sowohl im Glas wie im Tierversuche erweisbar.

Tabelle XI.

1 Agarkultur Cholera wird in 3 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt, mit 0,05 ccm Immunserum versetzt und bei rascher, vollständigster Agglutination 1 Stunde bei 37°, über Nacht bei Zimmertemperatur gehalten. Am anderen Morgen werden 3 Agarkulturen in je 3 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt und mit 0,05, 0,2 und 0,4 ccm Immunserum $^1/_2$ Stunde im Wasserbade von 37° gehalten. Alle Proben werden sodann zentrifugiert, gewaschen und die Bodensätze aus agglutinierten Vibrionen in je 3 ccm NaCl-Lösung 1 Stunde bei 42° unter wiederholtem Umschütteln gehalten. Nach Zentrifugieren ergeben sich die Extrakte I (sensibilisiert mit 0,05 ccm Serum, lange), II (0,05 ccm Serum, kurz sensibilisiert), III und IV (mit 0,2 und 0,4 ccm Serum sensibilisiert). Außer den Extrakten wurden auch die von der Sensibilisierung herrührenden Abgüsse auf Komplementbindung untersucht.

Kplt.	Immunserum	Reagens	Extrakt I	Extrakt II	Extrakt III	Extrakt IV	Abguß I	Abguß II	Abguß III	Abguß IV
0,05	0,05	0,6	0	0	Sp.	+	0	0	0	0
„	„	0,3	0	+	+++	++++	0	0	0	Sp.
„	—	0,6	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+
„	—	0,3	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

Die Kontrollen verliefen regelrecht.

Man bemerkt sofort, daß mit zunehmender Stärke der Sensibilisierung, der Menge des Serums nach, die erhaltenen Extrakte immer ärmer an freier Cholerasubstanz werden; hingegen macht es bei gleichbleibender Menge Immunserum keinen Unterschied aus, ob die Sensibilisierung nur kurz andauert oder lange fortgesetzt wird. Von Interesse erweist sich auch die Untersuchung der von der Sensibilisierung her übrigbleibenden, abzentrifugierten Flüssigkeiten, Abgüsse, die sämtlich reichlich Cholerasubstanz enthalten, dabei aber mit Ausnahme von Abguß IV selbst nicht hemmen. Dabei läßt sich in ihnen wirksames Serum nicht nur durch Agglutination frisch zugesetzter Vibrionen, sondern auch durch Komplementbindung nachweisen; so hemmten 0,6 und 0,3 ccm von Abguß IV mit 0,1 ccm Choleraextrakt vollständig, von Abguß III sehr stark, ein Beweis, daß schon während der Sensibilisierung ganz eigenartige Bindungs- und Abspaltungsvorgänge bestehen müssen.

Tabelle XII.

2 Meerschweinchen erhalten je $^1/_2$ Cholerakultur intraperitoneal und nach 3 Stunden bei bereits bestehender Peritonitis das eine (a) 1 ccm, das andere (b) 0,2 ccm Immunserum ip. Die Vergiftung schreitet schnell weiter, so daß die Tiere nicht ganz 5 Stunden nach der Infektion verblutet werden mußten. Die Exsudate, in denen nur Granula zu finden waren, wurden sorgfältig zentrifugiert und inaktiviert.

Kplt.	Immunserum	Choleraextrakt	Reagens	Exsudat a	Exsudat b
0,06	0,05	—	0,6	+	0
„	„	—	0,3	++	0
„	„	—	0,1	++++	++
„	„	—	0,6	++++	++++
„	—	0,07	0,6	+	++
„	—	„	0,3	++	++++
„	—	„	0,1	++++	++++

Die Kontrollen verliefen regelrecht.

Auch hier im Tierkörper merkt man an dem Ausfalle des Komplementbindungsversuches, daß mit zunehmender Serummenge die nachweisbare Cholerasubstanz abnimmt. Allerdings bedeutet das noch nicht, daß sie wirklich gebunden ist, ohne je wieder frei und wirksam, d. h. giftig werden zu können.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß die Vereinigung von Choleraimmunserum mit der Substanz der Choleravibrionen in ihren verschiedenen Formen keine beständige ist, sondern daß nach derselben beständig eine Zerlegung stattfindet, bei welcher einerseits, wie dies schon durch frühere Untersuchungen von Pfeiffer und Friedberger und Bail nachgewiesen wurde, Serumimmunkörper, andererseits aber auch Cholerasubstanz wieder frei werden. Die letztere läßt sich auf dem Wege der Komplementbindung sowohl im Glasversuche als auch im Meerschweinchen, welches mit Vibrionen und Immunserum behandelt wurde, nachweisen. Auf dieses Freiwerden der Cholerasubstanz, trotz Gegenwart von Immunserum, wird die mangelnde antitoxische Wirkung der Choleraseren zurückgeführt und als Ziel eines Fortschrittes der Choleraserotherapie zunächst die Herstellung von Seren bezeichnet, welche, ohne einen streng antitoxischen Charakter, die Cholerasubstanz (Endotoxine) in eine ständige und darum voraussichtlich minder giftige Verbindung mit den Immunkörpern umwandelt.

[Aus der bakteriologischen Abteilung (Abteilungs-Vorsteher: Dr. H. Braun) des Hygienischen Universitäts-Instituts zu Frankfurt a. M. (Direktor: Prof. Dr. M. Neisser).]

Untersuchungen an experimentell serumfest gemachten Typhusbacillen.

Von **Malwin Feiler,**
Medizinalpraktikant aus Breslau.

(Eingegangen bei der Redaktion am 25. Juli 1915.)

Einleitung.

Schon Buchner und seine Schule haben nachgewiesen, daß im normalen menschlichen Blut bakterizide Kräfte gegen den Typhusbacillus sich vorfinden. R. Pfeiffer fand dann, daß bei der aktiven Immunisierung eine sehr starke Vermehrung der bakteriziden Antikörper erfolgt, und daß diese Vermehrung streng spezifisch ist, wie dies in voller Deutlichkeit mit Hilfe des „Pfeifferschen Versuches" zu zeigen ist.

Von großer Bedeutung war nun die Tatsache, daß es Typhusbacillen gibt, die gegen die Bakterizidie geschützt sind. Diese Erscheinung zeigte z. B. der „Stamm Sprung", den Friedberger und Moreschi untersucht haben; die Autoren fanden, daß mehrere Immunsera, die sich anderen Stämmen gegenüber im Pfeifferschen Versuch als wirksam erwiesen, diesem Stamm gegenüber versagten. Auch ein mit dem Stamm selbst erzeugtes Immunserum vermochte nur in großen Konzentrationen Tiere gegen ihn zu schützen, während gegen einen anderen Stamm das Serum sich hochwirksam zeigte. Aehnliche Befunde zeigen die Untersuchungen von Besserer und Jaffé, die ebenfalls aus den Stühlen von Dauerausscheidern Stämme gewannen, die sich einzelnen Immunseris gegenüber im Pfeifferschen Versuch resistent zeigten; es gelang den Autoren, Tiere mit diesen Stämmen aktiv zu immunisieren, während die Erzeugung von Immunseris für passive Schutzversuche nicht gelang. Diese Stämme behielten ihre Resistenz auch bei langer Züchtung auf Agar vollständig

bei. Die Resistenz war also eine konstante Eigenschaft dieser Stämme. Aus den Stühlen von Typhuserkrankten und -trägern züchtete z. B. Schlemmer eine Reihe resistenter Stämme, die von ihm und Neufeld und Lindemann eingehend untersucht wurden.

Es wurden auch Tatsachen bekannt, die auf eine allgemeine Fähigkeit der Typhusbacillen hinweisen, unter der Wirkung des Serums gegen dessen bakterizide Kräfte vorübergehend resistent zu werden. Schon die Tatsache, daß sich bei jeder Typhusinfektion im strömenden Blut trotz seines hohen bakteriziden Titers lebende Typhusbacillen vorfinden, macht die Annahme wahrscheinlich, daß diese Bakterien serumfest geworden sind. Da die biologische Umwandlung offenbar auf die Einwirkung des Serums zu beziehen war, so wurde von Trommsdorff, Erich Cohn, Bail und Tsuda die künstliche Erzeugung serumfester Stämme durch Züchtung im Serum unternommen.

Die Versuchsergebnisse der genannten Autoren, wie auch die daraus gewonnenen Schlußfolgerungen weisen weitgehende Differenzen auf. Die Widersprüche, die sich über diese Frage in der Literatur vorfinden, veranlaßten uns, das Problem von neuem zu untersuchen, zumal da wir es für möglich hielten, daß die Untersuchung der Serumfestigkeit im Hinblick auf die künstliche Immunisierung gegen Typhus eines praktischen Interesses nicht entbehre.

Es lag nahe, die Serumfestigkeit der Typhusbacillen in Beziehung zu setzen zur Serumfestigkeit der Trypanosomen, deren biologisches Verhalten durch Paul Ehrlich, Levaditi und Mutermilch, Braun und Teichmann, F. Rosenthal, R. Neumann und Browning geklärt worden ist. In Hinsicht auf die Erfahrungen bei der Trypanosomenfestigkeit schien es geboten, bei der Untersuchung der Serumfestigkeit des Typhusbacillus festzustellen, ob hier ähnliche Gesetze obwalten wie bei den Trypanosomen, ob vor allem auch hier die Erwerbung der Serumfestigkeit mit einer antigenen Aenderung verbunden ist. Ueber diese Versuche ist zum Teil bereits in Kürze berichtet worden (vgl. Braun und Feiler, Ueber die Serumfestigkeit des Typhusbacillus, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 447—462).

Zunächst sei einiges über die Geschichte des Typhusstammes und die Methodik der Züchtung gesagt. Der zur Verwendung gelangende Stamm „Typhus Delp“ ist aus dem Blute eines Typhuskranken gezüchtet worden. Die Agarkultur erwies sich als typische Reinkultur des Typhusbacillus. Der Typhusstamm wurde auf Agar und in Bouillon weiter fortgezüchtet; die Agarpassage wurde in Abständen von etwa 14 Tagen frisch überimpft, während die Ueberimpfung in Bouillon täglich erfolgte.

Dieser Stamm wurde zur Anlegung von Kaninchenserum-Kulturen benutzt. Es wurde dabei auf folgende Weise vorgegangen:

Zunächst wurde der Stamm in Abständen von je 24 Stunden auf Ascites-Agar überimpft. Von der 4. Passage, deren Reinheit kontrolliert war, wurde je eine mittlere Oese Kultur in 2 ccm aktiven und in 2 ccm inaktiven (durch halbstündiges Erhitzen auf 56° inaktivierten) Kaninchenserums überimpft. Die Serumkulturen wurden 24 Stunden im Brutschrank von 37° belassen. Als die ersten Passagen deutliches, wenn auch schwaches Wachstum gezeigt hatten, wurden die Ueberimpfungen der „aktiven Normalserum-Kultur“, wie wir diesen Stamm in Kürze bezeichnen wollen, in aktives Kaninchenserum und der „inaktiven Normalserum-Kultur“ in inaktives Serum täglich vorgenommen. Das erforderliche Serum wurde von Kaninchen unter Anwendung aller Kautelen steril gewonnen. Ein Teil des klaren Serums wurde durch halbstündiges Erhitzen im Wasserbad von 56° inaktiviert. Das zur Züchtung der aktiven Serumkultur verwendete Serum war nicht älter als 48 Stunden.

Auf diese Weise wurde der „Stamm Delp“ durch mehrere Monate hindurch im aktiven und inaktiven normalen Kaninchenserum fortgezüchtet. Im Verlauf der Untersuchung erschien es nötig, den Stamm auch unter der dauernden Einwirkung von Immunserum (inaktivem und reaktiviertem) zu halten.

Zur Gewinnung des Immunserums wurden Kaninchen mit toten (55°, 1 Stunde) Typhusbacillen (Agarkulturen des „Stammes Delp“) subkutan und intravenös mittels 5 Injektionen immunisiert. 8 Tage nach der letzten Injektion wurden die Tiere steril verblutet, nachdem eine Probeagglutination gezeigt hatte, daß die Sera noch in Verdünnung 1 : 16 000 bzw. 1 : 32 000 agglutiniert hatten. Das Immunserum wurde inaktiviert.

Die Züchtung in Immunserum wurde folgendermaßen vorgenommen:

Zu je 1 ccm aktiven und zu 1 ccm inaktiven normalen Kaninchenserums wurde je 0,1 ccm des Immunserums hinzugefügt. Die Mischung

von 1 ccm inaktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Immunserum beimpften wir mit der Agarkultur des Ausgangsstammes, während wir das reaktivierte Immunserum mit der aktiven Normalserum-Kultur beimpften, die inzwischen bereits durch 44 Passagen im aktiven Serum gezüchtet worden war. Auch die Immunserum-Kulturen wurden täglich frisch überimpft. Die Reinheit der Kulturen wurde dauernd geprüft und bestätigt.

So wurden aus dem Ausgangsstamm durch über 100 Passagen 4 Tochterstämme im aktiven und inaktiven normalen Kaninchenserum und im reaktivierten und inaktiven Kaninchen-Immunserum gezüchtet, die wir morphologisch, kulturell, vor allem aber biologisch vergleichend untersuchten.

Der Kürze halber seien in der Folge die 4 Tochterstämme als:

a) aktive Normalserum-Kultur,
b) inaktive Normalserum-Kultur,
c) reaktivierte Immunserum-Kultur,
d) inaktive Immunserum-Kultur

bezeichnet.

I. Verhalten der Stämme gegen normales Serum.

Zunächst wurden die Stämme mehrmals in längeren Zeitabständen auf ihre Festigkeit den bakteriziden Kräften des normalen aktiven Kaninchenserums gegenüber geprüft, das gegen Typhusbacillen außerordentlich wirksam ist.

Etwa 20-stündiges Serum wurde zum Versuch benutzt, und zwar aktiv und bei 56° ½ Stunde inaktiviert. Zunächst wurde mit 0,95-proz. NaCl-Lösung eine Verdünnung der Serumkulturen und der Bouillonkultur des Ausgangsstammes auf 1:100 hergestellt. Je 0,1 ccm dieser Verdünnungen kamen in je 4 Reagenzröhrchen. In Röhrchen 1 und 2 befanden sich je 1 ccm aktives Serum, in Röhrchen 3 und 4 je 1 ccm inaktives Serum, Röhrchen 4 wurde sofort mit 10 ccm Agar von 42° zur Platte ausgegossen, die anderen Röhrchen kamen auf 3 Stunden in den Brutschrank von 37° und wurden dann ebenfalls zur Platte ausgegossen. Die sofort ausgegossene Platte zeigte die Einsaat, die Zahl der verwendeten Bakterien, an; die mit dem Inhalt von Röhrchen 3 nach 3 Stunden ausgegossene Platte zeigte zur Kontrolle das Wachstum des Stammes in unwirksamem Serum an. Die mit dem Inhalt von Röhrchen 1 und 2 gegossenen Platten zeigten die Wirkung des aktiven Serums auf die Stämme. Die Aussaat in aktivem Serum wurde stets doppelt vorgenommen, um eventuelle Versuchsunregelmäßigkeiten erkennen zu können. Die Sterilität des Serums prüften wir, indem wir je 1 ccm des aktiven und inaktiven Serums unbeimpft 3 Stunden im Brutschrank von 37° ließen und dann

ebenfalls zur Platte ausgossen. Die Platten kamen auf etwa 18 Stunden in den Brutschrank und wurden dann ausgezählt. Die Auszählung wurde unter dem Mikroskop (Zeiß, Okular 2, Objektiv AA) vorgenommen. Es wurden je 10 Gesichtsfelder ausgezählt, die in den Protokollen angegebenen Zahlen sind die Durchschnittswerte der sich bei Auszählung der Gesichtsfelder ergebenden Koloniezahlen. War infolge der allzu großen Kolonienzahl ein genaues Auszählen unmöglich, so wurde die ungefähre Zahl schätzungsweise angegeben. Diese Versuchsanordnung gestattet einen Einblick auf die Wirkung des aktiven Serums auf die Stämme. Besonders wichtig war die Beobachtung des Wachstums der Stämme in inaktivem Serum während des 3-stündigen Aufenthalts im Brutschrank. Erst dadurch, daß diese Kontrolle zum Vergleich herangezogen wird, kann man ein richtiges Urteil über die Wirkung des aktiven Serums gewinnen, weil auch im inaktiven Serum die Vermehrung gegenüber der Bouillon geringer ist, wie Versuch Tabelle I zeigt.

Tabelle I (am 26. II. 1914).

Zur Prüfung der Wachstumsgeschwindigkeit in Bouillon und im inaktiven normalen Kaninchenserum 1) des im aktiven Kaninchenserum gezüchteten, 2) des im inaktiven Kaninchenserum gezüchteten, 3) des Ausgangsstammes.

Zum Versuch werden folgende Stämme benutzt:
St. A: ist die Bouillonkultur des Ausgangsstammes,
St. B: ist der durch 146 Passagen in aktivem Serum gezüchtete Stamm,
St. C: ist der durch 146 Passagen in inaktivem Serum gezüchtete Stamm.

Folgende Reagentien werden verwendet:
1) Bouillon,
2) normales inaktives Kaninchenserum.

Versuchsanordnung: Je $^1/_{100000}$ ccm Kultur eines jeden Stammes wird verimpft in:
1) 1 ccm inaktives Kaninchenserum,
2) 1 ccm inaktives Kaninchenserum,
3) 1 ccm Bouillon,
4) 1 ccm Bouillon,
5) 1 ccm Bouillon (Einsaat).

Kontrolle 1: 1 ccm inaktives Kaninchenserum unbeimpft.
Kontrolle 2: 1 ccm Bouillon unbeimpft.

5 wird sofort ausgegossen zur Bestimmung der Einsaat, 1—4 und Kontrolle 1 und 2 werden nach 4 Stunden ausgegossen.

Die Auszählung der Platten am nächsten Tage ergibt:

St. A.				St. B.			
Platte 1:	11 Kol.	in 1	Gesichtsfeld	Platte 1:	19 Kol.	in 1	Gesichtsfeld
„ 2:	12 „	„ 1	„	„ 2:	17 „	„ 1	„
„ 3:	29 „	„ 1	„	„ 3:	40 „	„ 1	„
„ 4:	30 „	„ 1	„	„ 4:	36 „	„ 1	„
„ 5:	7 „	„ 1	„	„ 5:	8 „	„ 1	„

St. C.

Platte 1:	23	Kolonien	in 1	Gesichtsfeld
„ 2:	22	„	„ 1	„
„ 3:	etwa 80	„	„ 1	„
„ 4:	etwa 90	„	„ 1	„
„ 5:	12	„	„ 1	„

Kontrolle 1: steril. Kontrolle 2: steril.

Resultat: In Bouillon erfolgt bei allen 3 Stämmen in gleicher Weise rascheres Wachstum als im inaktiven Kaninchenserum.

Es sei im folgenden zunächst eine Auswahl aus den Versuchen wiedergegeben, die das Verhalten der 5 unter verschiedenen Bedingungen gezüchteten Stämme gegenüber dem normalen aktiven Kaninchenserum zeigen.

Tabelle II (am 26. XI. 1913).

Zur Prüfung der Bakterizidiefestigkeit des a) in Bouillon, b) in inaktivem Kaninchenserum, c) in aktivem Kaninchenserum, d) in reaktiviertem Kaninchen-Immunserum, e) in inaktivem Kaninchen-Immunserum gezüchteten Typhusstammes.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

St. A: ist die Bouillonkultur des Ausgangsstammes,
St. B: ist der durch 55 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,
St. C: ist der durch 55 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,
St. D: ist der zuerst durch 45 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 10 Passagen in 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Kaninchen-Immunserum (des Ausgangsstammes) gezüchtete Stamm,
St. E: ist der durch 5 Passagen in 1 ccm inaktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Kaninchen-Immunserum (des Ausgangsstammes) gezüchtete Stamm.

Folgende Reagentien werden verwendet:

1) normales aktives Kaninchenserum } desselben Tieres,
2) normales inaktives Kaninchenserum }
3) Kaninchen-Immunserum, mit dem Ausgangsstamm erzeugt (Kan. No. 764),
4) Bouillon,
5) 0,85-proz. NaCl-Lösung.

Versuchsanordnung: Je $^1/_{1000}$ ccm Kultur von St. A—E werden verimpft in:

1) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm NaCl-Lösung,
2) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm NaCl-Lösung,

3) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Kan.-Immunserum 764,
4) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Kan.-Immunserum 764,
5) 1 ccm inaktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Kan.-Immunserum 764,
6) 1 ccm inaktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Kan.-Immunserum 764,
7) 1,1 ccm Bouillon (Einsaat),
8) 1,1 ccm Bouillon.

Kontrolle 1: 1 ccm aktives Kaninchenserum unbeimpft.

Kontrolle 2: 1 ccm inaktives Kan.-Serum + 0,1 ccm Kan.-Immunserum 764 unbeimpft.

Röhrchen 1—6, Kontrolle 1 und 2 werden nach 3 Stunden, Röhrchen 7 wird sofort zur Platte ausgegossen.

Die Auszählung der Platten am nächsten Tage ergibt:

St. A: Ausgangsstamm.

Pl.	Kol. in 1 Gesichtsf.
Pl. 1:	1,2
„ 2:	1,1
„ 3:	37,5
„ 4:	42,2
„ 5:	etwa 500
„ 6:	„ 600
„ 7:	„ 350
„ 8:	„ 1000

St. B: Inaktive Normalserum-Kultur.

Pl.	Kol. in 1 Gesichtsf.
Pl. 1:	2,4
„ 2:	1,7
„ 3:	56,1
„ 4:	66,3
„ 5:	etwa 400
„ 6:	„ 400
„ 7:	„ 300
„ 8:	„ 1000

St. C: Aktive Normalserum-Kultur.

Pl.	Kol. in 1 Gesichtsf.
Pl. 1:	etwa 500
„ 2:	„ 500
„ 3:	„ 500
„ 4:	„ 500
„ 5:	„ 500
„ 6:	„ 400
„ 7:	„ 300
„ 8:	„ 1000

St. D: Reaktivierte Immunserum-Kultur.

Pl.	Kol. in 1 Gesichtsf.
Pl. 1:	etwa 500
„ 2:	„ 400
„ 3:	„ 500
„ 4:	„ 500
„ 5:	„ 500
„ 6:	„ 400
„ 7:	„ 100–150
„ 8:	„ 1000

St. E: Inaktive Immunserum-Kultur.

Platte	Kolonien in 1 Gesichtsfeld
Platte 1:	7,6
„ 2:	5,9
„ 3:	52,2
„ 4:	65,8
„ 5:	etwa 500
„ 6:	„ 300
„ 7:	47,7
„ 8:	etwa 1000

Kontrolle 1: steril. Kontrolle 2: steril.

Resultat: Die aktive Normalserum-Kultur (55. Passage) und die reaktivierte Immunserum-Kultur (10. Passage) werden durch aktives normales Kaninchenserum und durch reaktiviertes Immunserum bakterizid nicht beeinflußt, während die inaktive Normalserum-Kultur (55. Passage) und die inaktive

Immunserum-Kultur (5. Passage) stark abgetötet werden, ebenso wie der Ausgangsstamm.

Tabelle III (am 16. XII. 1913).

Zur Prüfung der Bakterizidiefestigkeit des a) im aktiven Kaninchenserum, b) im inaktiven Kaninchenserum, c) im reaktivierten Kaninchen-Immunserum, d) im inaktiven Kaninchen-Immunserum, e) in Bouillon gezüchteten Typhusstammes.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

St. A: ist der durch 73 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist der durch 73 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. C: ist der durch 45 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 29 Passagen in 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Kaninchen-Immunserum des Ausgangsstammes gezüchtete Stamm,

St. D: ist der durch 22 Passagen in 1 ccm inaktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Kaninchen-Immunserum des Ausgangsstammes gezüchtete Stamm,

St. E: ist die Bouillonkultur des Ausgangsstammes.

Folgende Reagentien wurden verwendet:

1) normales aktives Kaninchenserum } desselben Tieres.
2) normales inaktives Kaninchenserum }

Versuchsanordnung: Je $^1/_{1000}$ ccm Kultur von St. A—E werden verimpft in:

1) 1 ccm aktives Kaninchenserum,
2) 1 ccm aktives Kaninchenserum,
3) 1 ccm inaktives Kaninchenserum,
4) 1 ccm inaktives Kaninchenserum.

Kontrolle 1: 1 ccm aktives Kaninchenserum unbeimpft.

Kontrolle 2: 1 ccm inaktives Kaninchenserum unbeimpft.

Röhrchen 1—3 und Kontrolle 1—2 werden nach 3 Stunden, 4 wird sofort zur Platte ausgegossen.

Die Auszählung der Platten am folgenden Tage ergibt:

St. A: Aktive Normalserum-Kultur.

Pl.			
Pl. 1:	etwa 600	Kol. in 1	Gesichtsf.
„ 2:	„ 600	„ „ 1	„
„ 3:	„ 600	„ „ 1	„
„ 4:	„ 200	„ „ 1	„

St. B: Inaktive Normalserum-Kultur.

Pl.			
Pl. 1:	1,4	Kol. in 1	Gesichtsf.
„ 2:	1,3	„ „ 1	„
„ 3:	etwa 1000	„ „ 1	„
„ 4:	„ 250–300	„ „ 1	„

St. C: Reaktivierte Immunserum-Kultur.

Pl.			
Pl. 1:	600	Kolonien in 1	Gesichtsfeld
„ 2:	600	„ „ 1	„
„ 3:	600	„ „ 1	„
„ 4:	150	„ „ 1	„

St. D: Inaktive Immunserum-Kultur.

Pl.			
Pl. 1:	13,5	Kol. in 1	Gesichtsf.
„ 2:	17	„ „ 1	„
„ 3:	etwa 1000	„ „ 1	„
„ 4:	„ 600	„ „ 1	„

St. E: Ausgangsstamm.

Platte 1:	0,7	Kolonien in	1 Gesichtsfeld
„ 2:	0,7	„ „	1 „
„ 3:	etwa 600	„ „	1 „
„ 4:	„ 400	„ „	1 „

Kontrolle 1: steril. Kontrolle 2: steril.

Resultat: Die aktive Normalserum-Kultur (73. Passage) und die reaktivierte Immunserum-Kultur (29. Passage) erweisen sich wie in Tabelle II dem normalen aktiven Kaninchenserum gegenüber als bakterizidiefest. Die inaktive Normalserum-Kultur (73. Passage) und die inaktive Immunserum-Kultur (22. Passage) werden von dem aktiven normalen Kaninchenserum stark abgetötet.

Tabelle IV (am 29. XII. 1913).

Zur Prüfung der Bakterizidiefestigkeit des a) in aktivem Kaninchenserum, b) in inaktivem Kaninchenserum, c) in reaktiviertem Kaninchen-Immunserum, d) in inaktivem Kaninchen-Immunserum, e) in Bouillon gezüchteten Typhusstammes.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

St. A: ist der durch 86 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist der durch 86 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. C: ist der durch 45 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 41 Passagen in 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Kaninchen-Immunserum des Ausgangsstammes gezüchtete Stamm (86. Passage im Serum),

St. D: ist der durch 36 Passagen in 1 ccm inaktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Kan.-Immunserum des Ausgangsstammes gezüchtete Stamm,

St. E: ist die Bouillonkultur des Ausgangsstammes.

Folgende Reagentien werden verwendet:

1) normales aktives Kaninchenserum } desselben Tieres.
2) normales inaktives Kaninchenserum }

Versuchsanordnung: Je $^{1}/_{1000}$ ccm Kultur von St. A—E werden verimpft in:

1) 1 ccm aktives Kaninchenserum,
2) 1 ccm aktives Kaninchenserum,
3) 1 ccm inaktives Kaninchenserum,
4) 1 ccm inaktives Kaninchenserum.

Kontrolle 1: 1 ccm aktives Kaninchenserum unbeimpft.
Kontrolle 2: 1 ccm inaktives Kaninchenserum unbeimpft.

Röhrchen 1—3 und Kontrolle 1—2 werden nach 3 Stunden, 4 wird sofort zur Platte gegossen.

Die Auszählung der Platten am folgenden Tage ergibt:

St. A: Aktive Normalserum-Kultur.

Pl. 1:	etwa 500 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	„ 500 „ „ 1 „
„ 3:	„ 400 „ „ 1 „
„ 4:	„ 200 „ „ 1 „

St. B: Inaktive Normalserum-Kultur.

Pl. 1:	0,1 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	0,2 „ „ 1 „
„ 3:	etwa 1000 „ „ 1 „
„ 4:	„ 350–400 „ „ 1 „

St. C: Reaktivierte Immunserum-Kultur.

Pl. 1:	etwa 100 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	„ 120 „ „ 1 „
„ 3:	„ 100 „ „ 1 „
„ 4:	„ 75 „ „ 1 „

St. D: Inaktive Immunserum-Kultur.

Pl. 1:	0,2 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	0,1 „ „ 1 „
„ 3:	etwa 1000 „ „ 1 „
„ 4:	„ 350 „ „ 1 „

St. E: Ausgangsstamm.

Platte 1:	0,1 Kolonien in 1 Gesichtsfeld
„ 2:	steril
„ 3:	etwa 400 „ „ 1 „
„ 4:	„ 250–300 „ „ 1 „

Kontrolle 1: steril. Kontrolle 2: steril.

Resultat: Die aktive Normalserum-Kultur (86. Passage) und die reaktivierte Immunserum-Kultur (41. Passage) erweisen sich wie in Tabelle II dem aktiven normalen Kaninchenserum gegenüber als bakterizidiefest. Die inaktive Normalserum-Kultur (86. Passage) und die inaktive Immunserumkultur (36. Passage) bleiben trotz langer Züchtung im Serum gegenüber dem normalen aktiven Kaninchenserum ebenso bakterizidieempfindlich wie der Ausgangsstamm.

Wie aus den Versuchen hervorgeht, erweist sich der durch eine große Zahl (55—86) von Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm gegenüber den bakteriziden Kräften des Normalserums völlig unempfindlich. Er wächst, unbehelligt von den bakteriziden Stoffen, in dem aktiven Normalserum genau so gut wie in dem inaktiven Normalserum, während der Ausgangsstamm in der gleichen Zeit von den gleichen aktiven Normalseris nahezu bis zur Sterilität abgetötet wird. Ebenso verhält sich der unter der Einwirkung des reaktivierten Immunserums stehende Stamm in der 10., der 29. und der 41. Passage; er ist komplett serumfest. Diesen beiden bakterizidiefesten, unter dem Einfluß des aktiven Serums gezüchteten Stämmen stehen die im inaktiven Normalserum und im inaktiven Immunserum gezüchteten Stämme gegenüber. Der im inaktiven Normalserum durch 55 Passagen

(in Tabelle II), durch 73 Passagen (Tabelle III), durch 86 Passagen (Tabelle IV) gezüchtete Stamm wird vom aktiven Normalserum abgetötet. Diese Resultate stimmen mit den Versuchen Trommsdorffs und Erich Cohns überein. Diese Autoren haben ihre Stämme im aktiven und inaktiven normalen Kaninchenserum, **nicht** auch im Immunserum gezüchtet. Ihre Züchtungen beschränkten sich freilich auf wenige, höchstens 11 Passagen, während uns bei den Versuchen Kulturen zu Verfügung standen, die 86, in unserem letzten Versuch sogar 98 Passagen im aktiven bzw. inaktiven Normalserum durchgemacht hatten.

Die Tatsache, daß der durch 36 Passagen unter dem Einfluß des inaktiven Immunserums stehende Stamm keinerlei Andeutung von Festigkeit zeigt, beweist, daß der Ambozeptor allein die Ausbildung der Serumfestigkeit nicht herbeiführt, was bereits E. Cohn aus seinen Versuchen folgert. Die Festigkeit entwickelt sich nur unter dem Einfluß des Komplexes Ambozeptor + Komplement. Es empfiehlt sich daher, hier allgemeiner von einer Bakterizidiefestigkeit zu sprechen.

In Gegensatz stehen unsere Ergebnisse zu denen Tsudas. Tsuda fand, daß bereits eine einmalige Passage von Typhusbacillen im inaktiven, $^1/_2$-stündig auf 58^0 erhitzten normalen Meerschweinchenserum eine starke Resistenz der Bakterien gegen Bakterizidie, ihre „Animalisierung“ hervorrufe; ebenso fand Tsuda, daß eine Bakterizidiefestigkeit sich durch einmalige Passage in einem Serum entwickelt, das vorher mit toten Bacillen behandelt wurde. Er kommt durch diese Ergebnisse zu der Anschauung, daß zwar die vermehrte Resistenz durch eine besondere Eigenschaft des Serums bedingt sei, daß aber die beiden bakteriziden Komponenten, der Immunkörper und das Komplement des betreffenden Serums, an der Animalisierung der Bacillen unbeteiligt seien.

Eine Tatsache wäre ferner zu erwähnen, die aus Tabelle II hervorgeht. Es zeigt sich in dem Versuch, daß sowohl der Ausgangsstamm als auch die im inaktiven Normal- und Immunserum gezüchteten Kulturen von 1 ccm aktivem Kaninchenserum + 0,1 ccm Immunserum viel schwächer abgetötet werden, als von 1 ccm aktivem normalen Kaninchenserum allein; diese

verminderte bakterizide Fähigkeit des reaktivierten Immunserums ist auf Komplementablenkung (Neisser-Wechsbergsches Phänomen) zurückzuführen. Es tritt diese Erscheinung bei dem später zu besprechenden Versuch 12 noch deutlicher und klarer hervor. Es folgt aus dieser Tatsache, daß man durch den starken Zusatz des Immunserums die bakterizide Fähigkeit des Normalserums herabgesetzt hat, und man muß daher annehmen, daß ein Mischserum mit sehr hohem Immunkörper-Gehalt zum Züchten serumfester Stämme wegen seiner geringeren bakteriziden Wirkung **weniger** geeignet ist, als das normale Serum.

II. Verhalten des bakterizidiefesten Stammes gegenüber den Seris anderer Tierarten.

Diese Gruppe von Versuchen betrifft die Frage, ob die Stämme sich auch anderen bakterizid wirksamen Serumarten gegenüber resistent erweisen, und zwar gegenüber 1) Meerschweinchenserum, 2) Menschenserum. Außer dem normalen aktiven Menschenserum wurde auch das aktive Serum des inzwischen in Rekonvaleszenz befindlichen Patienten benutzt, aus dessen Blut der Typhusstamm gezüchtet worden war. Das Serum agglutinierte Typhus-Formol-Bouillonkultur noch bei 1 : 800, als es benutzt wurde.

Tabelle V (am 1. XII. 1913).

Zur Entscheidung über die Frage, ob der aktivem Kaninchenserum gegenüber bakterizidiefeste Typhusstamm auch aktivem Meerschweinchenserum gegenüber bakterizidiefest ist.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

St. A: ist der durch 58 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist der durch 58 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm.

Folgende Reagentien werden verwendet:

1) aktives Meerschweinchenserum,
2) inaktives Meerschweinchenserum ($^1/_2$ Stunde auf 56° erhitzt),
3) Kaninchen-Immunserum, mit dem Ausgangsstamm erzeugt (No. 763),
4) Bouillon,
5) 0,85-proz. NaCl-Lösung.

Versuchsanordnung: Je $^{1}/_{1000}$ ccm Kultur von St. A und B werden verimpft in:

1) 1 ccm aktives Meerschw.-Serum + 0,1 ccm NaCl-Lösung,
2) 1 ccm aktives Meerschw.-Serum + 0,1 ccm NaCl-Lösung,
3) 1 ccm aktives Meerschw.-Serum + 0,1 ccm Kan.-Immunserum 763,
4) 1 ccm inaktives Meerschw.-Serum + 0,1 ccm Kan.-Immunserum 763,
5) 1 ccm inaktives Meerschw.-Serum + 0,1 ccm Kan.-Immunserum 763,
6) 1,1 ccm Bouillon.

Kontrolle 1: 0,7 ccm aktives Meerschw.-Serum + 0,1 ccm NaCl-Lösung unbeimpft.

Kontrolle 2: 0,7 ccm inaktives Meerschw.-Serum + 0,1 ccm Kan.-Immunserum 763.

Röhrchen 1—5 und Kontrolle 1—2 werden nach 3 Stunden ausgegossen, 6 sofort.

Die Auszählung der Platten am nächsten Tage ergibt:

St. A: Aktive Normalserum-Kultur.		St. B: Inaktive Normalserum-Kultur.	
Pl. 1:	etwa 200 Kol. in 1 Gesichtsf.	Pl. 1:	12,8 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	„ 250–300 „ „ 1 „	„ 2:	9,4 „ „ 1 „
„ 3:	„ 200 „ „ 1 „	„ 3:	8,6 „ „ 1 „
„ 4:	„ 400 „ „ 1 „	„ 4:	etwa 400 „ „ 1 „
„ 5:	„ 400 „ „ 1 „	„ 5:	„ 300 „ „ 1 „
„ 6:	„ 200 „ „ 1 „	„ 6:	„ 150–200 „ „ 1 „

Kontrolle 1: steril. Kontrolle 2: steril.

Resultat: Der normalem aktiven Kaninchenserum gegenüber bakterizidiefeste Stamm wird auch von normalem aktiven Meerschweinchenserum nicht abgetötet.

Tabelle VI (am 4. XII. 1913).

Zur Entscheidung über die Frage, ob der gegen aktives Kaninchenserum bakterizidiefeste Typhusstamm auch aktivem normalen Menschenserum und dem aktiven Serum eines Typhus-Rekonvaleszenten gegenüber bakterizidiefest ist.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

St. A: ist der durch 61 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist der durch 61 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm.

Folgende Reagentien werden verwendet:

1) normales aktives und inaktives Menschenserum (als solches diente das Serum des Verfassers, der niemals eine Typhusinfektion durchgemacht hat),
2) aktives und inaktives Serum eines Typhus-Rekonvaleszenten (Pat. Delp, aus dessen Blut der Stamm gezüchtet worden war; Agglutinationstiter 1 : 800).

Versuchsanordnung: Je $^1/_{1000}$ ccm Kultur von St. A und B werden verimpft in:

1) 1 ccm aktives Serum Delp,
2) 1 ccm aktives Serum Delp,
3) 1 ccm inaktives Serum Delp,
4) 1 ccm inaktives Serum Delp,
5) 1 ccm aktives Normal-Menschenserum,
6) 1 ccm aktives Normal-Menschenserum,
7) 1 ccm inaktives Normal-Menschenserum,
8) 1 ccm inaktives Normal-Menschenserum.

Kontrolle 1: 1 ccm aktives Serum Delp.
Kontrolle 2: 1 ccm inaktives Serum Delp.
Kontrolle 3: 1 ccm aktives Normal-Menschenserum.
Kontrolle 4: 1 ccm inaktives Normal-Menschenserum.

Röhrchen 1—3, 5—7, Kontrolle 1—4 werden nach 3 Stunden ausgegossen, Röhrchen 4 und 8 werden sofort ausgegossen zur Bestimmung der Einsaat.

Die Auszählung der Platten am folgenden Tage ergibt:

1) St. A: Aktive Normalserum-Kultur + Serum Delp.

Pl. 1: etwa 600 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2: „ 600 „ „ 1 „
„ 3: „ 400 „ „ 1 „
„ 4: „ 250 „ „ 1 „

2) St. A: Aktive Normalserum-Kultur + normales Menschenserum.

Pl. 5: etwa 600 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 6: „ 600 „ „ 1 „
„ 7: „ 500 „ „ 1 „
„ 8: „ 200 „ „ 1 „

3) St. B: Inaktive Normalserum-Kultur + Serum Delp.

Pl. 1: 4 Kol. auf der Agarplatte
„ 2: 2 „ „ „ „
„ 3: etwa 500 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 4: „ 250 „ „ 1 „

4) St. B: Inaktive Normalserum-Kultur + normales Menschenserum.

Pl. 5: 2 Kol. auf der Agarplatte
„ 6: steril
„ 7: etwa 400 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 8: „ 200–250 „ „ 1 „

Kontrolle 1—4: sämtlich steril.

Resultat: Die gegenüber normalem aktiven Kaninchenserum bakterizidiefeste aktive Normalserum-Kultur erweist sich als fest auch gegenüber aktivem normalen Menschenserum und aktivem Typhus-Rekonvaleszentenserum.

Auch aktivem Meerschweinchenserum gegenüber zeigt sich die aktive Kaninchenserum-Kultur vollständig resistent. In aktivem Normal-Menschenserum und in aktivem Rekonvaleszentenserum wächst der serumfeste Stamm mindestens so gut, wie in dem unwirksamen inaktivierten Serum, während die inaktive Normalserum-Kultur außerordentlich stark, trotz

großer Einsaat fast bis zur Sterilität von beiden aktiven Seris abgetötet wird. Es zeigt sich mithin, daß eine Tierspezifität der Serumfestigkeit nicht vorhanden ist. Dieser Befund deckt sich mit den Versuchen, die Erich Cohn angestellt hat. Cohn fand seine kaninchenserumfesten Stämme Menschen- und Hammelserum gegenüber fest.

III. Verhalten der Bakterizidiefestigkeit.

Die folgenden beiden Versuche betreffen die Frage nach der Schnelligkeit der Entwicklung serumfester Stämme.

Tabelle VII (am 16. XII. 1913).

Zur Feststellung der Schnelligkeit des Eintrittes der Bakterizidiefestigkeit bei Ueberimpfung des Ausgangsstammes in aktives Kaninchenserum.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

St. A: ist der durch 73 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist die Bouillonkultur des Ausgangsstammes,

St. C: ist die 1. Passage des Ausgangsstammes in aktives Kaninchenserum (1 ccm aktives Kaninchenserum wurde am vorhergehenden Tage mit der Bouillonkultur des Ausgangsstammes reichlich beimpft).

Folgende Reagentien werden verwendet:

1) aktives Kaninchenserum } desselben Tieres.
2) inaktives Kaninchenserum }

Versuchsanordnung: Je $^1/_{1000}$ ccm Kultur von St. A—C werden verimpft in:

1) 1 ccm aktives Kaninchenserum,
2) 1 ccm aktives Kaninchenserum,
3) 1 ccm inaktives Kaninchenserum,
4) 1 ccm inaktives Kaninchenserum.

Kontrolle 1: 1 ccm aktives Kaninchenserum unbeimpft.
Kontrolle 2: 1 ccm inaktives Kaninchenserum unbeimpft.

Röhrchen 1—3 und Kontrolle 1—2 werden nach 3 Stunden, Röhrchen 4 wird sofort ausgegossen.

Die Auszählung der Platten am folgenden Tage ergibt:

St. A: Aktive Normalserum-Kultur, 73. Passage.

Pl.		Kol. in 1 Gesichtsf.
1:	etwa 600	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	„ 600	„ „ 1 „
„ 3:	„ 600	„ „ 1 „
„ 4:	„ 200	„ „ 1 „

St. B: Ausgangsstamm.

Pl.		Kol. in 1 Gesichtsf.
1:	0,7	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	0,7	„ „ 1 „
„ 3:	etwa 600	„ „ 1 „
„ 4:	„ 400	„ „ 1 „

St. C: Aktive Normalserum-Kultur, 1. Passage.

Platte 1:	0,7	Kolonien in	1 Gesichtsfeld
„ 2:	0,6	„ „	1 „
„ 3:	etwa 90	„ „	1 „
„ 4:	15,3	„ „	1 „

Kontrolle 1: steril. Kontrolle 2: steril.

Resultat: Die einmalige Passage des bakterizidieempfindlichen Stammes in aktivem normalen Kaninchenserum führt nicht zur völligen Ausbildung von Bakterizidiefestigkeit.

Tabelle VIII (am 18. XII. 1913).

Zur Feststellung der Schnelligkeit des Eintrittes der Bakterizidiefestigkeit bei Ueberimpfung des Ausgangsstammes in aktives Kaninchenserum.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

St. A: ist der durch 75 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist der durch 75 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. C: ist durch 3 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtet worden.

Reagentien und Versuchsanordnung wie Tabelle VII.

Die Auszählung der Platten am folgenden Tage ergibt:

St. A: Aktive Normalserum-Kultur, 75. Passage.

Pl. 1:	etwa 250	Kol. in	1 Gesichtsf.
„ 2:	„ 250	„ „	1 „
„ 3:	„ 200	„ „	1 „
„ 4:	„ 70	„ „	1 „

St. B: Inaktive Normalserum-Kultur, 75. Passage.

Pl. 1:	1,3	Kol. in	1 Gesichtsf.
„ 2:	1,4	„ „	1 „
„ 3:	etwa 250	„ „	1 „
„ 4:	„ 100	„ „	1 „

St. C: Aktive Normalserum-Kultur, 3. Passage.

Platte 1:	etwa 70	Kolonien in	1 Gesichtsfeld
„ 2:	„ 80	„ „	1 „
„ 3:	„ 80	„ „	1 „
„ 4:	34,4	„ „	1 „

Kontrolle 1: steril. Kontolle 2: steril.

Resultat: Die dreimalige 24-stündige Passage des bakterizidieempfindlichen Ausgangsstammes in normalem aktivem Kaninchenserum führt eine Bakterizidiefestigkeit des Stammes herbei.

Die Versuche lehren folgendes: Während die 1. Passage des Ausgangsstammes im aktiven Serum noch stark abgetötet wird (von 15,3 auf 0,6 Kolonien in 1 Gesichtsfeld), erweist sich die 3. Passage schon als völlig bakterizidiefest. Es erfolgt im aktiven Serum in 3 Stunden Vermehrung der Keime auf das Doppelte, genau wie im inaktiven unwirksamen Serum.

während der Kontroll-Ausgangsstamm stark abgetötet wird (von 100 Kolonien auf 1,3 Kolonien). Die Bakterizidiefestigkeit wird somit bei Züchtung in aktivem Serum nicht bei der ersten Passage, sondern innerhalb von drei Passagen erworben.

Es wurde weiterhin untersucht, wie lange die Bakterien ihre Bakterizidiefestigkeit festhalten, wenn das Serum nicht mehr auf sie einwirkt, mit anderen Worten, ob die festen Bakterien in den Zustand der bakteriziden Serumempfindlichkeit des Ausgangsstammes zurückkehren, wenn bei Passagen in anderen Nährmedien der Einfluß des aktiven Serums fehlt. Diese Frage wurde in der Weise geprüft, daß die gegen aktives Serum feste Kultur in Agar- und Bouillonpassagen gezüchtet und im bakteriziden Versuch auf ihre Festigkeit geprüft wurde.

Tabelle IX (am 3. I. 1914).

Zur Entscheidung über die Frage, ob der bakterizidiefeste Stamm bei Passage in Bouillon und Agar seiner Serumfestigkeit verlustig geht.

Zur Untersuchung gelangen folgende Stämme:

St. A: ist ein durch 90 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 1 Passage in Bouillon gezüchteter Stamm,
St. B: ist ein durch 90 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 1 Passage auf Agar gezüchteter Stamm,
St. C: ist ein durch 83 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 8 Passagen in Bouillon gezüchteter Stamm,
St. D: ist ein durch 83 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 8 Passagen auf Agar gezüchteter Stamm,
St. E: ist die Bouillonpassage des Ausgangsstammes,
St. F: ist die Agarpassage des Ausgangsstammes.

Folgende Reagentien werden verwendet:
1) aktives Kaninchenserum,
2) inaktives Kaninchenserum.

Versuchsanordnung: Je $^1/_{1000}$ ccm Bouillonkultur von St. A, C, E und je $^1/_{1000}$ Oese Agarkultur von St. B, D, F werden verimpft in:
1) 1 ccm aktives Kaninchenserum,
2) 1 ccm aktives Kaninchenserum,
3) 1 ccm inaktives Kaninchenserum,
4) 1 ccm inaktives Kaninchenserum.
Kontrolle 1: 1 ccm aktives Kaninchenserum, unbeimpft.
Kontrolle 2: 1 ccm inaktives Kaninchenserum, unbeimpft.

Röhrchen 1—3 und Kontrolle 1—2 werden nach 3 Stunden, Röhrchen 4 wird sofort zur Platte ausgegossen.

Die Auszählung der Platten am folgenden Tage ergibt:

St. A: 1. Bouillonpassage.

Pl. 1:	etwa 500	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	„ 400–450	„ „ 1 „
„ 3:	„ 300	„ „ 1 „
„ 4:	„ 250	„ „ 1 „

St. B: 1. Agarpassage.

Pl. 1:	17,5	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	19,3	„ „ 1 „
„ 3:	etwa 200	„ „ 1 „
„ 4:	„ 200	„ „ 1 „

St. C: 8. Bouillonpassage.

Pl. 1:	16,4	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	16,1	„ „ 1 „
„ 3:	etwa 300	„ „ 1 „
„ 4:	„ 200	„ „ 1 „

St. D: 8. Agarpassage.

Pl. 1:	1,5	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	1,8	„ „ 1 „
„ 3:	etwa 400	„ „ 1 „
„ 4:	„ 300	„ „ 1 „

St. E: Ausgangsstamm, Bouillonpassage.

Pl. 1:	steril	
„ 2:	2 Kol. auf der Agarplatte	
„ 3:	etwa 600	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 4:	„ 400	„ „ 1 „

St. F: Ausgangsstamm, Agarpassage.

Pl. 1:	steril	
„ 2:	steril	
„ 3:	etwa 300	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 4:	„ 150	„ „ 1 „

Kontrolle 1: steril. Kontrolle 2: steril.

Resultat: Einmalige Passage des bakterizidiefesten Stammes in Bouillon ruft keinen Verlust der Festigkeit hervor: einmalige Passage auf Agar führt zu starker Einbuße der Festigkeit. 8-malige Passage in Bouillon schwächt die Serumfestigkeit des Stammes erheblich, 8-malige Passage auf Agar hebt die Festigkeit fast völlig auf.

Tabelle X (am 16. XII. 1913).

Zur Entscheidung über die Frage, wann der bakterizidiefeste Stamm bei Passage in Bouillon seiner Bakterizidiefestigkeit verlustig geht.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

St. A: ist der durch 73 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist die Bouillonkultur des Ausgangsstammes,

St. C: ist ein durch 56 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 18 Passagen in Bouillon gezüchteter Stamm.

Reagentien und Versuchsanordnung siehe Tabelle IX.

Die Auszählung der Platten am folgenden Tage ergibt:

St. A: Aktive Normalserum-Kultur.

Pl. 1:	etwa 600	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	„ 600	„ „ 1 „
„ 3:	„ 600	„ „ 1 „
„ 4:	„ 200	„ „ 1 „

St. B: Bouillonkultur des Ausgangsstammes.

Pl. 1:	0,7	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	0,7	„ „ 1 „
„ 3:	etwa 600	„ „ 1 „
„ 4:	„ 400	„ „ 1 „

St. C: 18. Bouillonpassage des bakterizidiefesten Stammes.

Platte 1:	37,2	Kolonien	in 1	Gesichtsfeld
„ 2:	25,9	„	„ 1	„
„ 3:	etwa 1000	„	„ 1	„
„ 4:	„ 400	„	„ 1	„

Kontrolle 1: steril. Kontrolle 2: steril.

Resultat: 18 Passagen in Bouillon schwächen zwar die Bakterizidiefestigkeit des festen Stammes stark, lassen sie aber noch teilweise bestehen.

Tabelle XI (am 17. I. 1914).

Zur Entscheidung über die Frage, wann der bakterizidiefeste Stamm bei Passage in Bouillon und Agar seiner Festigkeit verlustig geht.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

St. A: ist ein durch 101 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 4 Passagen in Bouillon gezüchteter Stamm,

St. B: ist ein durch 101 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 4 Passagen auf Agar gezüchteter Stamm,

St. C: ist ein durch 57 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 50 Passagen in Bouillon gezüchteter Stamm,

St. D: ist die Bouillonkultur des Ausgangsstammes.

Reagentien und Versuchsanordnung siehe Tabelle IX.

Die Auszählung der Platten am folgenden Tage ergibt:

St. A: 4. Passage des festen Stammes in Bouillon.

Pl. 1:	etw. 350–400	Kol.	in 1	Gesichtsf.
„ 2:	„ 300	„	„ 1	„
„ 3:	„ 300	„	„ 1	„
„ 4:	„ 200	„	„ 1	„

St. B: 4. Passage des festen Stammes auf Agar.

Pl. 1:	40	Kol.	in 1	Gesichtsf.
„ 2:	40	„	„ 1	„
„ 3:	etwa 450	„	„ 1	„
„ 4:	„ 350	„	„ 1	„

St. C: 50. Passage des festen Stammes in Bouillon.

Pl. 1:	3,3	Kol.	in 1	Gesichtsf.
„ 2:	2,7	„	„ 1	„
„ 3:	etwa 600	„	„ 1	„
„ 4:	„ 350	„	„ 1	„

St. D: Bouillonkultur des Ausgangsstammes.

Pl. 1:	2 Kol. auf der Agarplatte			
„ 2:	steril			
„ 3:	etwa 400	Kol.	in 1	Gesichtsf.
„ 4:	„ 300	„	„ 1	„

Kontrolle 1: steril. Kontrolle 2: steril.

Resultat: 4 Passagen in Bouillon lassen die Bakterizidiefestigkeit des festen Stammes unverändert, 4 Passagen auf Agar führen zu sehr starkem Verlust der Festigkeit. 50 Passagen in Bouillon veranlassen fast völliges Erlöschen der Festigkeit.

Man ersieht aus den vorliegenden Versuchen, daß die Eigenschaft der Bakterizidiefestigkeit in der Tat bei Passagen über Bouillon und Agar verloren geht. Besonders bemerkenswert ist die Tatsache, daß die Bakterizidiefestigkeit bei Passage über Agar schon in der 1. Passage stark herabgesetzt wird. Der Stamm, der 90 Passagen hindurch unter der Wirkung des aktiven Serums gehalten wurde, büßt bei einer einzigen Agarpassage seine Festigkeit gegenüber den bakteriziden Serumkräften stark ein. Interessant ist ferner, daß die Rückbildung bei Bouillonpassage viel langsamer vor sich geht, als bei Passage über Agar (Tabelle IX, Stamm A). Wie der Versuch zeigt, ist die 1. Passage in Bouillon noch serumfest. Besonders deutlich tritt der Unterschied in der Schnelligkeit der Rückbildung in der 4. Passage in Bouillon und auf Agar hervor (Tabelle XI, Stamm A und B). Bei der 8. Passage des bakterizidiefesten Stammes in Bouillon hat seine Serumfestigkeit schon stark gelitten, ist aber noch partiell vorhanden, während die 8. Agarpassage schon fast komplett abgetötet wird (Tabelle IX, Stamm C und D). Ja selbst die 50. Passage der aktiven Normalserum-Kultur in Bouillon (Versuch XI, Stamm C) scheint noch nicht ganz zurückgebildet zu sein. Die Rückbildung der Bakterizidiefestigkeit in Bouillon hat Erich Cohn bereits festgestellt.

Der schnelle Verlust der Bakterizidiefestigkeit bei Agarpassage weist auf diese wichtige Fehlerquelle beim Arbeiten mit bakterizidiefesten Stämmen hin.

IV. Verhalten gegenüber Immunserum.

Bekanntlich ist bei bakteriziden Plattenversuchen mit komplettiertem Immunserum auf die Komplementablenkung (M. Neisser und Wechsberg) Rücksicht zu nehmen. Besonders deutlich tritt diese Erscheinung in folgendem Versuch zutage.

Tabelle XII (am 28. XI. 1913).

Prüfung des Einflusses von Immunserumzusatz zu 1 ccm aktiven Kaninchenserums auf dessen bakterizide Wirkung.

Zur Untersuchung kommen folgende Stämme:

St. A: ist der durch 56 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist der durch 56 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm.

Es werden folgende Reagentien benutzt:

1) normales aktives Kaninchenserum } desselben Tieres,
2) normales inaktives Kaninchenserum }
3) Immunserum, gewonnen mit dem Ausgangsstamm (Kan. No. 763),
4) 0,85-proz. NaCl-Lösung,
5) Bouillon.

Versuchsanordnung: Je $^1/_{1000}$ ccm Kultur von St. A und B werden verimpft in:

1) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm NaCl-Lösung,
2) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm NaCl-Lösung,
3) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Immunserum,
4) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm der Verdünnung $^1/_{10}$ Immunserum,
5) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm der Verdünnung $^1/_{100}$ Immunserum,
6) 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Immunserum.
7) 1 ccm inaktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Immunserum,
8) 1,1 ccm Bouillon.

Kontrolle 1: 1 ccm aktives Kaninchenserum + 0,1 ccm NaCl-Lösung, unbeimpft.

Kontrolle 2: 1 ccm inaktives Kaninchenserum + 0,1 ccm Immunserum, unbeimpft.

Röhrchen 6 und 8 werden sofort, Röhrchen 1—5 und 7 sowie die Kontrollen werden nach 3 Stunden zur Platte ausgegossen.

Die Auszählung der Platten am folgenden Tage ergibt:

St. A: Aktive Normalserum-Kultur.			St. B: Inaktive Normalserum-Kultur.		
Pl. 1:	etwa 300	Kol. in 1 Gesichtsf.	Pl. 1:	9,7	Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2:	„ 300–350	„ „ 1 „	„ 2:	9,8	„ „ 1 „
„ 3:	„ 400	„ „ 1 „	„ 3:	77,8	„ „ 1 „
„ 4:	„ 400	„ „ 1 „	„ 4:	18,6	„ „ 1 „
„ 5:	„ 350	„ „ 1 „	„ 5:	7,8	„ „ 1 „
„ 6:	„ 150	„ „ 1 „	„ 6:	etwa 250	„ „ 1 „
„ 7:	„ 350	„ „ 1 „	„ 7:	„ 500–600	„ „ 1 „
„ 8:	„ 150–200	„ „ 1 „	„ 8:	„ 250–300	„ „ 1 „

Kontrolle 1: steril. Kontrolle 2: steril.

Resultat: Ein Zusatz von zu großer Immunserummenge zum normalem aktiven Serum verstärkt nicht, sondern schwächt die bakterizide Wirkung des normalen Serums infolge Komplementablenkung (Neisser-Wechsbergsches Phänomen).

Wir benutzten für die jetzt folgenden Versuche die von M. Neisser und Wechsberg angegebene Methode.

Von den zur Untersuchung zu benutzenden inaktiven Immunseris wurden mit physiologischer NaCl-Lösung Verdünnungen von 1 : 100 bis 1 : 100 000 hergestellt. Je 1 ccm dieser Verdünnungen wurde zum Versuch benutzt. Reaktiviert wurde das Immunserum mit frischem aktiven Meerschweinchenserum. Dieses wurde mit 0,85-proz. NaCl-Lösung auf 1 : 10 verdünnt, und 0,5 ccm dieser Verdünnung wurden dem Immunserum zugesetzt. In diese Serummengen wurden die Typhuskulturen verimpft. und zwar 0,1 ccm einer Verdünnung der Kulturen von 1 : 10 oder 1 : 100. Mit NaCl-Lösung wurde die Flüssigkeit auf 2 ccm aufgefüllt. Jedem Röhrchen wurden 3 Tropfen Bouillon zugesetzt. Die Röhrchen kamen hierauf für 3 Stunden in den Brutschrank von 37 ^{0}, dann wurde der ganze Inhalt der Röhrchen mit Agar von 42 ^{0} zur Platte ausgegossen. Die Auszählung der Platten wurde nach der früher angegebenen Weise vorgenommen. Die Kontrollen waren folgende: 1) wurde die Größe der Einsaat geprüft, 2) wurde die Vermehrung der Bakterien ohne Serumzusatz innerhalb von 3 Stunden festgestellt. Ferner wurde die Wirkung des beim Versuch verwendeten aktiven Meerschweinchenserums ohne Immunserumzusatz auf Bakterizidie geprüft, sowie die Unwirksamkeit des inaktiven Immunserums. Schließlich wurde die Sterilität der verwendeten Reagentien und die Reinheit der untersuchten Kulturen geprüft.

Nach dieser Methode wurden zunächst die Immunsera untersucht, die auf die oben angegebene Weise durch Immunisierung von Kaninchen mit dem Ausgangsstamm gewonnen worden waren.

Tabelle XIII (am 6. I. 1914).

Zur Prüfung der bakteriziden Wirksamkeit von Immunseris, die mit dem Ausgangsstamm erzeugt wurden, gegenüber dem Ausgangsstamm.

Zur Untersuchung kommt die Bouillonkultur des Ausgangsstammes.

Folgende Reagentien wurden verwendet:

1) frisches aktives Meerschweinchenserum,
2) Kaninchen-Immunsera, die mit dem Ausgangsstamm gewonnen wurden (761, 763, 764),
3) 0,85-proz. NaCl-Lösung,
4) Bouillon.

Versuchsanordnung:

Röhrchen 1, 4, 7: 1 ccm der Verd. $^{1}/_{10}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^{1}/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^{1}/_{100}$ Bouillonkultur des Ausgangsstammes + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 2, 5, 8: 1 ccm der Verd. $^{1}/_{100}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^{1}/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^{1}/_{100}$ Bouillonkultur des Ausgangsstammes + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 3, 6, 9: 1 ccm der Verd. $^{1}/_{1000}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^{1}/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^{1}/_{100}$ Bouillonkultur des Ausgangsstammes + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 1—3 enthält Immunserum 761; Röhrchen 4—6 enthält Immunserum 763, Röhrchen 7—9 enthält Immunserum 764.

Kontrollen:

1) 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Bouillonkultur des Ausgangsstammes + 1,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.
2) 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ des Bouillonkultur des Ausgangsstammes + 1,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.
3) 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Bouillonkultur des Ausgangsstammes + 1,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.
4) 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 761 + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Bouillonkultur des Ausgangsstammes + 0,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.
5) 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 763 + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Bouillonkultur des Ausgangsstammes + 0,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.
6) 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 764 + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Bouillonkultur des Ausgangsstammes + 0,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.
7) 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 1,5 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.
8) 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 761 + 1 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.
9) 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 763 + 1 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.
10) 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 764 + 1 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 1—9, Kontrollen 2—10 werden nach 3 Stunden, Kontrolle 1 wird sofort zur Platte ausgegossen.

Ergebnis am nächsten Tage:

Immunserum 761.		Immunserum 763.	
Platte 1:	17,2 Kol. in 1 Gesichtsfeld	Pl. 4:	etwa 100 Kol. in 1 Gesichtsfeld
„ 2:	11,3 „ „ 1 „	„ 5:	„ 75 „ „ 1 „
„ 3:	5,1 „ „ 1 „	„ 6:	7,1 „ „ 1 „

Immunserum 764.

Platte 7:	4,1 Kol. in 1 Gesichtsfeld
„ 8:	3,0 „ „ 1 „
„ 9:	1,2 „ „ 1 „

Kontrollen:

1 K:	etwa 200–250 Kol. in 1 Gesichtsf.	6 K:	etwa 500 Kol. in 1 Gesichtsf.
2 K:	„ 800 „ „ 1 „	7 K:	steril
3 K:	„ 60 „ „ 1 „	8 K:	„
4 K:	„ 500 „ „ 1 „	9 K:	„
5 K:	„ 500 „ „ 1 „	10 K:	„

Resultat: Die Immunsera 761, 763, 764 wirken in hohen Verdünnungen stark bakterizid auf den Ausgangsstamm.

Tabelle XIII betrifft die Immunsera, die wir bei Züchtung unserer Immunserum-Kulturen verwendeten. Während das aktive Meerschweinchenserum allein die Zahl der eingesäten Bakterien auf $^1/_3$ reduziert, verstärkt der Zusatz von nur $^1/_{1000}$ ccm Immunserum die Abtötung außerordentlich (z. B. bewirkt $^1/_{1000}$ ccm Immunserum 764 Verstärkung der Abtötung auf $^1/_{200}$). Bei Zusatz größerer Mengen von Immunserum tritt die Komplementablenkung wieder deutlich hervor (Platte 4). Das inaktive Immunserum ist ganz wirkungslos: die geringere Zahl von Kolonien auf Platte 4 K—6 K gegenüber 2 K erklärt sich daraus, daß das Immunserum die in ihm wachsenden Bakterien stark agglutiniert und die Zahl der Keime dadurch scheinbar herabsetzt.

Wir gehen jetzt zur Untersuchung der Frage über, ob der gegen das aktive Normalserum feste Stamm auch gegenüber dem mit dem Ausgangsstamm erzeugten Immunserum fest ist. Es zeigt dies der folgende Versuch.

Tabelle XIV (am 14. I. 1914).

Wird der serumfeste Stamm durch Immunserum, gewonnen mit dem Ausgangsstamm, abgetötet?

Folgende Reagentien werden verwendet:
1) aktives Meerschweinchenserum,
2) inaktives Kaninchen-Immunserum 764, gewonnen mit dem Ausgangsstamm,
3) 0,85-proz. NaCl-Lösung,
4) Bouillon, zur Verdünnung der Kulturen benutzt.

Das Serum wird geprüft:
1) gegenüber dem Ausgangsstamm,
2) gegenüber der aktiven Normalserum-Kultur, 102. Passage.

Versuchsanordnung:

Röhrchen 1 und 5: 1 ccm der Verd. des Immunser. $^1/_{10}$ + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Ausgangsstamm-Bouillonkultur resp. der aktiven Serumkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung.

Röhrchen 2 und 6: 1 ccm der Verd. des Immunser. $^1/_{100}$ + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Ausgangsstamm-Bouillonkultur resp. der aktiven Serumkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung.

Röhrchen 3 und 7: 1 ccm der Verd. des Immunser. $^1/_{1000}$ + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Ausgangsstamm-Bouillonkultur resp. der aktiven Serumkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung.

Röhrchen 4 und 8: 1 ccm der Verd. des Immunser. $^1/_{10000}$ + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Ausgangsstamm-Bouillonkultur resp. der aktiven Serumkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung.

Kontrollen:

1 K: 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 1,9 ccm NaCl-Lösung.

2 K: 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 1,9 ccm NaCl-Lösung.

3 K: 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ aktive Serumkultur + 1,9 ccm NaCl-Lösung.

4 K: 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ aktive Serumkultur + 1,9 ccm NaCl-Lösung.

5 K: 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 1,4 ccm NaCl-Lösung.

6 K: 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ aktive Serumkultur + 1,4 ccm NaCl-Lösung.

7 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Immunser. 764 + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,9 ccm NaCl-Lösung.

8 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Immunser. 764 + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ aktive Serumkultur + 0,9 ccm NaCl-Lösung.

9 K: 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 1,5 ccm NaCl-Lösung.

10 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Immunser. 764 + 1 ccm NaCl-Lösung.

Ergebnis am folgenden Tage:

A. Prüfung gegen den Ausgangsstamm.	B. Prüfung gegen den serumfesten Stamm.
Platte 1: 0,2 Kol. in 1 Gesichtsfeld	Pl. 5: etwa 1000 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 2: 0,3 „ „ 1 „	„ 6: „ 1000 „ „ 1 „
„ 3: 0,15 „ „ 1 „	„ 7: „ 1000 „ „ 1 „
„ 4: 4 „ auf der Agarplatte	„ 8: „ 1000 „ „ 1 „

Kontrollen:

1 K:	etwa 200 Kol. in 1 Gesichtsf.	6 K:	etwa 1000 Kol. in 1 Gesichtsf.
2 K:	„ 1000 „ „ 1 „	7 K:	„ 600 „ „ 1 „
3 K:	„ 200 „ „ 1 „	8 K:	„ 1000 „ „ 1 „
4 K:	„ 1000 „ „ 1 „	9 K:	steril
5 K:	„ 10,4 „ „ 1 „	10 K:	steril

Resultat: Immunserum, gewonnen vom Ausgangsstamm, ist gegenüber dem serumfesten Stamm wirkungslos.

Meerschweinchenserum allein zeigt zwar in diesem Versuche eine bakterizide Wirkung gegen den Ausgangsstamm, die aber durch Zusatz des Immunserums außerordentlich zu verstärken war. Der serumfeste Stamm hingegen erweist sich dem Immunserum gegenüber vollständig resistent; er wächst bei einem Serumzusatz, der komplette Abtötung des Ausgangsstammes bewirkt, genau so üppig, wie in der serumfreien Kontrolle (Platte 8, Kontrolle 6). Aus diesem Versuche geht hervor, daß der Typhusbacillus, der eine Widerstandsfähigkeit gegenüber der bakteriziden Wirkung des Normalserums erlangt hat, sich auch den bakteriziden Kräften des Immunserums gegenüber resistent erweist.

V. Sind der Ausgangsstamm und der bakterizidiefeste Stamm in ihrem antigenen Verhalten verschieden?

Wir immunisierten Kaninchen mit dem Vaccin des serumfesten Stammes, das auf folgende Weise hergestellt wurde:

Zur Vaccinbereitung wurde zunächst die aktive Immunserum-Kultur, deren komplette Serumfestigkeit vorher festgestellt war, später die aktive Normalserum-Kultur benutzt. Das aktive Immunserum-Vaccin stellten wir so her, daß wir je 2 ccm frisches aktives Normalserum + 0,2 ccm Immunserum des Ausgangsstammes mit 2 mittleren Oesen der 24-stündigen aktiven Immunserum-Passage beimpften. Zur Herstellung des aktiven Normalserum-Kulturvaccins beimpften wir entsprechend je 2 ccm aktiven Normalserums mit 2 Oesen der aktiven Normalserum-Kultur. Die Kulturen blieben zunächst 24 Stunden im Brutschrank von 37° und dann wurden sie durch 1-stündiges Erhitzen auf 55° im Wasserbad abgetötet. Die Kulturen wurden auf Reinheit, das Vaccin auf Sterilität geprüft. Die Kaninchen erhielten 4—5 Injektionen von je 2 ccm Vaccin. Die erste Injektion wurde subkutan vorgenommen, die nächsten intravenös. Die Injektionen wurden gut vertragen. Die Probeagglutination ergab deutliche Agglutinationen noch bei einer Serumverdünnung von 1:16000. Vor der Immunisierung hatten wir denselben Tieren steril Blut entnommen, das bei der Prüfung des Immunserums gleichzeitig mituntersucht wurde.

Es erschien uns von Wichtigkeit, das aktive Immunserum zu prüfen, ehe wir es inaktiviert und reaktiviert verwendeten. Den Versuch haben wir nach der bei den ersten Experimenten benutzten Methodik ausgeführt.

Tabelle XIVb (am 29. XII. 1913).

Aktives, mit dem bakterizidiefesten Stamm gewonnenes Kaninchen-Immunserum wird auf seine bakterizide Wirkung geprüft gegenüber dem a) im aktiven Kaninchenserum, b) dem im inaktiven Kaninchenserum, c) dem im reaktivierten Kaninchen-Immunserum, d) dem im inaktiven Kaninchen-Immunserum gezüchteten Stamm, e) gegenüber dem Ausgangsstamm.

Zur Untersuchungen kommen folgende Stämme:

St. A: ist der durch 86 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist der durch 86 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. C: ist der durch 44 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 42 Passagen in reaktiviertem Kan.-Immunserum gezüchtete Stamm,

St. D: ist der durch 36 Passagen in inaktivem Kan.-Immunserum gezüchtete Stamm,

St. E: ist die Bouillonkultur des Ausgangsstammes.

Folgende Reagentien werden verwendet:

1) frisches, aktives mit dem bakterizidiefesten Stamm erzeugtes Kan.-Immunserum (No. 766),
2) normales aktives Kaninchenserum } desselben Tieres.
3) normales inaktives Kaninchenserum } desselben Tieres.

Versuchsanordnung: Je $^1/_{1000}$ ccm Kultur von St. A—E werden verimpft in:

1) 1 ccm aktives Immunserum 766,
2) 1 ccm aktives Immunserum 766,
3) 1 ccm aktives normales Kaninchenserum,
4) 1 ccm aktives normales Kaninchenserum,
5) 1 ccm inaktives normales Kaninchenserum,
6) 1 ccm inaktives normales Kaninchenserum.

Kontrolle 1: 1 ccm aktives Immunserum 766.
Kontrolle 2: 1 ccm aktives Kaninchenserum.
Kontrolle 3: 1 ccm inaktives Kaninchenserum.

Röhrchen 6 wird sofort, Röhrchen 1—5 und Kontrollen 1—3 werden nach 3 Stunden zur Platte ausgegossen.

Die Auszählung der Platten am folgenden Tage ergibt:

St. A: Aktive Normalserum-Kultur.

Pl. 1:	etwa 600	Kol. in	1	Gesichtsf.
„ 2:	„ 500–600	„ „	1	„
„ 3:	„ 500	„ „	1	„
„ 4:	„ 500	„ „	1	„
„ 5:	„ 400	„ „	1	„
„ 6:	„ 200	„ „	1	„

St. B: Inaktive Normalserum-Kultur.

Pl. 1:	1,8	Kol. in	1	Gesichtsf.
„ 2:	1,3	„ „	1	„
„ 3:	0,1	„ „	1	„
„ 4:	0,2	„ „	1	„
„ 5:	etwa 1000	„ „	1	„
„ 6:	„ 350–400	„ „	1	„

St. C: Reaktivierte Immunserum-Kultur.

Pl. 1:	etwa 150–200	Kol. in	1	Gesichsf.
„ 2:	„ 150	„ „	1	„
„ 3:	„ 100	„ „	1	„
„ 4:	„ 120	„ „	1	„
„ 5:	„ 100	„ „	1	„
„ 6:	„ 75	„ „	1	„

St. D: Inaktive Immunserum-Kultur.

Pl. 1:	1,2	Kol. in	1	Gesichtsf.
„ 2:	1,6	„ „	1	„
„ 3:	0,2	„ „	1	„
„ 4:	0,1	„ „	1	„
„ 5:	etwa 1000	„ „	1	„
„ 6:	„ 350	„ „	1	„

St. E: Bouillonkultur des Ausgangsstammes.

Platte 1:	18,2	Kol. in	1	Gesichtsfeld
„ 2:	19,1	„ „	1	„
„ 3:	0,1	„ „	1	„
„ 4:	steril			
„ 5:	etwa 450	„ „	1	„
„ 6:	„ 250	„ „	1	„

Kontrollen 1—3: sämtlich steril.

Resultat: Das aktive Immunserum erweist sich den festen Stämmen gegenüber als bakterizid unwirksam, den bakteri-

zidieempfindlichen Stämmen gegenüber als weniger wirksam wie normales aktives Serum.

Die serumfesten Stämme A und C zeigen sich vollständig serumfest gegenüber dem mit dem homologen Stamm hergestellten aktiven Immunserum. Bemerkenswert ist das Verhalten der nicht-serumfesten Stämme. Diese werden von dem Immunserum, das, wie später noch zu zeigen sein wird, sich reaktiviert im typischen Plattenversuch als höchst wirksam erwies, schwächer abgetötet als vom normalen aktiven Kaninchenserum. Noch zwei weitere aktiv geprüfte Immunsera, sowohl ein mit dem Ausgangsstamm als auch ein weiteres mit dem serumfesten Stamm erzeugtes Immunserum, zeigten dieselbe merkwürdige Erscheinung. Für die Erklärung dieses Verhaltens liegen zwei Möglichkeiten vor: entweder eine Verringerung des Komplementgehaltes im Vergleich zu normalem aktiven Serum oder Komplementablenkung (Neisser-Wechsbergsches Phänomen).

Es möge nun der Versuch folgen, welcher die Frage beantworten soll, ob durch Immunisierung mit dem bakterizidiefesten Stamm ein bakterizides Serum gegen den Ausgangsstamm erzielt werden kann.

Tabelle XV (am 16. I. 1914).

Zur Entscheidung über die Frage, ob im bakteriziden Reagenzglasversuch eine Vermehrung von bakteriziden Antikörpern gegen den Ausgangsstamm durch Immunisierung mit dem Vaccin des bakterizidiefesten Stammes nachweisbar ist.

Zum Versuch wird die Bouillonkultur des Ausgangsstammes benutzt.

Folgende Reagentien werden verwendet:

1) aktives Meerschweinchenserum,
2) inaktives Kaninchen-Immunserum 766, gewonnen mit dem Vaccin des bakterizidiefesten Stammes,
3) Serum, das dem Kaninchen 766 vor der Immunisierung entnommen wurde (I. Entnahme),
4) 0,85-proz. NaCl-Lösung,
5) Bouillon, zur Verdünnung der Kulturen benutzt.

Versuchsanordnung:

Röhrchen 1 und 5: 1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Serum + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung.

Röhrchen 2 und 6: 1 ccm der Verd. $^1/_{1000}$ Serum + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung.

Röhrchen 3 und 7: 1 ccm der Verd. $^1/_{10000}$ Serum + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung.

Röhrchen 4 und 8: 1 ccm der Verd. $^1/_{100000}$ Serum + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung.

Kontrollen:

1 K: 0,1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 1,9 ccm NaCl-Lösung.

2 K: 0,1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 1,9 ccm NaCl-Lösung.

3 K: 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 1,4 ccm NaCl-Lösung.

4 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ I. Entnahme 766 + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,9 ccm NaCl-Lösung.

5 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Immunser. 766 + 0,1 der Verd. $^1/_{10}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,9 ccm NaCl-Lösung.

6 K: 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 1,5 ccm NaCl-Lösung.

7 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ I. Entnahme 766 + 1 ccm NaCl-Lösung.

8 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Immunser. 766 + 1 ccm NaCl-Lösung.

In Röhrchen (Platte) 1—4: I. Entnahme 766; in Röhrchen (Platte) 5—8: Immunserum 766.

Ergebnis am folgenden Tage:

Ausgangsstamm + I. Entnahme 766.	Ausgangsstamm + Immunserum 766.
Platte 1: 2,4 Kol. in 1 Gesichtsf.	Platte 5: 20,1 Kol. in 1 Gesichtsfeld
„ 2: 9,8 „ „ 1 „	„ 6: 3,7 „ „ 1 „
„ 3: etwa 80 „ „ 1 „	„ 7: 1,6 „ „ 1 „
„ 4: „ 80 „ „ 1 „	„ 8: 9,5 „ „ 1 „

Kontrollen:

1 K: etwa 1000 Kol. in 1 Gesichtsf.	5 K: etwa 700 Kol. in 1 Gesichtsf.
2 K: „ 1000 „ „ 1 „	6 K: steril
3 K: „ 80—90 „ „ 1 „	7 K: „
4 K: „ 1000 „ „ 1 „	8 K: „

Resultat: Das Immunserum erweist sich dem Ausgangsstamm gegenüber noch in hohen Verdünnungen als bakterizid sehr wirksam, in denen das Normalserum desselben Tieres nicht mehr wirksam ist. Die Immunisierung mit dem festen Stamm hat somit zu einer Vermehrung von bakteriziden Antikörpern gegen den Ausgangsstamm geführt.

Wir sehen, daß der Zusatz von $^1/_{100}$ ccm der I. Entnahme zum Meerschweinchenserum noch eine sehr hohe Verstärkung der Abtötung (um das 30-fache etwa) bewirkt; hingegen läßt bei Zusatz von $^1/_{1000}$ ccm Normalserum die verstärkende Wirkung schon erheblich nach; der Zusatz von $^1/_{10000}$ ccm des Normalserums ist bereits ganz wirkungslos.

Im Gegensatz dazu ist die Wirkung von $^1/_{100}$ ccm Immunserum infolge der starken Komplementablenkung gering, sie nimmt aber mit wachsender Verdünnung des Immunserums nicht ab, wie beim Normalserum, sondern steigert sich sehr stark. Ein Zusatz von $^1/_{10000}$ ccm Immunserum verstärkt die Bakterizidie um das 50-fache, und selbst noch ein Zusatz von $^1/_{100000}$ ccm Serum erhöht die bakterizide Wirkung noch um das 10-fache. Der Versuch hat gezeigt, daß durch die Immunisierung mit dem bakterizidiefesten Stamm bakterizide Antikörper gegen den Ausgangsstamm gebildet werden, daß also die antigenen Eigenschaften des bakterizidiefesten Stammes erhalten waren.

Wir gehen nunmehr zu Versuchen über, die das Verhalten des bakterizidiefesten Stammes gegenüber einem Immunserum betreffen, das mit dem festen Stamm hergestellt worden war.

Tabelle XVI (am 16. I. 1914).

Untersuchung von zwei Immunseris, die durch Immunisierung von Kaninchen mit dem Vaccin des bakterizidiefesten Stammes gewonnen wurden, auf ihren bakteriziden Antikörpergehalt gegenüber dem Ausgangsstamm und dem serumfesten Stamm.

Zur Untersuchung werden folgende Stämme verwendet:

1) die Bouillonkultur des Ausgangsstammes,
2) der im aktiven Kaninchenserum durch 102 Passagen gezüchtete Stamm.

Folgende Reagentien wurden verwendet:

1) aktives Meerschweinchenserum,
2) Kaninchen-Immunserum No. 766 } erzeugt mit dem Vaccin des
3) Kaninchen-Immunserum No. 769 } bakterizidiefesten Stammes,
4) 0,85-proz. NaCl-Lösung,
5) Bouillon.

Versuchsanordnung:

Röhrchen 1 und 5: 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 2 und 6: 1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 3 und 7: 1 ccm der Verd. $^1/_{1000}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 4 und 8: 1 ccm der Verd. $^1/_{10000}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 9 und 13: 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der aktiven Normalserumkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 10 und 14: 1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der aktiven Normalserumkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 11 und 15: 1 ccm der Verd. $^1/_{1000}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der aktiven Normalserumkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen 12 und 16: 1 ccm der Verd. $^1/_{10000}$ Immunser. + 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ der aktiven Normalserumkultur + 0,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Röhrchen (Platte)	1—4	Immunserum	766	geprüft gegenüber dem Ausgangsstamm
„ „	5—8	„	769	
„ „	9—12	„	766	geprüft gegenüber dem bakterizidiefesten Stamm.
„ „	13—16	„	769	

Kontrollen:

1 K: 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 1,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

2 K: 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 1,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

3 K: 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ aktive Normalserum-Kultur + 1,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

4 K: 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ aktive Normalserum-Kultur + 1,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

5 K: 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 1,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

6 K: 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ aktive Normalserum-Kultur + 1,4 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

7 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 766 + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

8 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 766 + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ aktive Normalserum-Kultur + 0,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

9 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 769 + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ Ausgangsstamm-Bouillonkultur + 0,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

10 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 769 + 0,1 ccm der Verd. $^1/_{100}$ aktive Normalserum-Kultur + 0,9 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

11 K: 0,5 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Meerschw.-Ser. + 1,5 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

12 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 766 + 1 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

13 K: 1 ccm der Verd. $^1/_{10}$ Immunser. 769 + 1 ccm NaCl-Lösung + 3 Tropfen Bouillon.

Ergebnis:

A. Prüfung gegen den Ausgangsstamm.

I. Immunserum 766.	II. Immunserum 769.
Platte 1: 9,6 Kol. in 1 Gesichtsfeld	Platte 5: 5,1 Kol. in 1 Gesichtsfeld
„ 2: 0,6 „ „ 1 „	„ 6: 0,7 „ „ 1 „
„ 3: 0,2 „ „ 1 „	„ 7: 0,2 „ „ 1 „
„ 4: 0,15 „ „ 1 „	„ 8: 0,15 „ „ 1 „

B. Prüfung gegen den serumfesten Stamm.

I. Immunserum 766.	II. Immunserum 769.
Pl. 9: etwa 1000 Kol. in 1 Gesichtsf.	Pl. 13: etwa 1000 Kol. in 1 Gesichtsf.
„ 10: „ 1000 „ „ 1 „	„ 14: „ 1000 „ „ 1 „
„ 11: „ 1000 „ „ 1 „	„ 15: „ 1000 „ „ 1 „
„ 12: „ 1000 „ „ 1 „	„ 16: „ 1000 „ „ 1 „

C. Kontrollen.

1 K: etwa 200 Kol. in 1 Gesichtsfeld	8 K: etwa 1000 Kol. in 1 Gesichtsfeld
2 K: „ 1000 „ „ 1 „	9 K: „ 600 „ „ 1 „
3 K: „ 200 „ „ 1 „	10 K: „ 500 „ „ 1 „
4 K: „ 1000 „ „ 1 „	11 K: steril
5 K: 10,4 „ „ 1 „	12 K: „
6 K: etwa 1000 „ „ 1 „	13 K: „
7 K: „ 600 „ „ 1 „	

Resultat: Beide mit dem festen Stamm gewonnenen, gegen den Ausgangsstamm wirksamen Immunsera zeigen sich gegen den festen Stamm bakterizid unwirksam.

Wie aus dem Versuch hervorgeht, zeigt sich der serumfeste Stamm auch gegenüber dem Immunserum des serumfesten Stammes im bakteriziden Reagenzglasversuch vollständig unempfindlich. Die Wirksamkeit der zum Versuch verwendeten Sera beweist der Umstand, daß durch Zusatz von $^1/_{10000}$ ccm dieser Sera die Abtötung des Ausgangsstammes durch Meerschweinchenserum auf das 100-fache erhöht wird (vgl. Platte 4 und Platte 8 mit Kontrollplatte 5). Der serumfeste Stamm

jedoch wächst bei Zusatz einer beliebigen Menge von Immunserum genau so stark, wie ohne Immunserumzusatz (vgl. Platte 9—16 mit Kontrollplatte 4 und 6). Im bakteriziden Reagenzglasversuch zeigt sich also, daß bei der Immunisierung von Kaninchen mit dem serumfesten Stamm keine Neubildung von besonderen bakteriziden Ambozeptoren gegen den serumfesten Stamm erfolgt.

VI. Verhalten im Tierversuch.

Da sich der Ausgangsstamm Delp Meerschweinchen gegenüber als sehr wenig virulent erwies (1 ccm einer 24-stündigen, dicht gewachsenen Bouillonkultur rief, intraperitoneal injiziert, kaum Krankheitserscheinungen hervor), so war er für Anstellung von Schutzversuchen an Meerschweinchen unbrauchbar; für Schutzversuche mit Meerschweinchen zogen wir darum einen anderen Typhusstamm (Typhus Hopf) heran. Typhus Hopf war nach mehreren Meerschweinchenpassagen etwa ein halbes Jahr hindurch auf Agar fortgezüchtet worden. Es ist ein kulturell und morphologisch völlig typischer, gut agglutinabler Stamm, der Meerschweinchen bei intraperitonealer Injektion von $^1/_5$ Oese tötet. Wir züchteten Typhus Hopf analog Typhus Delp in aktivem Kaninchen- und Meerschweinchenserum. Nach wenigen Passagen erwiesen sich die beiden in den aktiven Seris gezüchteten Stämme gegenüber aktivem Kaninchenserum als fest, während der Ausgangsstamm fast ganz abgetötet wurde. Typhus Hopf benutzten wir nunmehr für Schutzversuche an Meerschweinchen, während wir entsprechende Versuche an Mäusen mit dem bisher benutzten Stamm Delp vornahmen. Es hätte erwartet werden können, daß mit der Erwerbung der Bakterizidiefestigkeit eine Steigerung der Virulenz sich verbinden würde; sind doch die derartig angepaßten Bakterien gegen eine gefährliche Waffe des Organismus, durch die bei jeder gewöhnlichen Infektion sofort ein großer Teil der Bakterien vernichtet wird, völlig geschützt. Große Mengen, beispielsweise bis 2 ccm einer 24-stündigen, reichlich gewachsenen aktiven Serumpassage vom Stamm Hopf wurden, bei einer Virulenz des Ausgangsstammes von $^1/_5$ Oese,

von Meerschweinchen gleichen Gewichts noch vertragen. Aehnliche Erfahrungen wurden bei Infektion von Mäusen mit der aktiven Serumpassage von Typhus Delp gemacht. Der Infektionsverlauf wurde beim Meerschweinchen mehrfach durch wiederholte Kapillarentnahmen kontrolliert; das Exsudat zeigte, im hängenden Tropfen und in Methylenblaupräparaten untersucht, analog den Versuchen von Bail und Tsuda, niemals Granulabildung, dagegen ungestörte, lebhafte Phagocytose. Noch nach 2 Tagen wurden aus dem Peritonealexsudat sehr zahlreiche lebende Typhusbacillen herausgezüchtet; die infizierten Tiere zeigten keine Krankheitssymptome und unterlagen auch bei längerer weiterer Beobachtung nicht der Infektion. Aus diesen Tatsachen geht hervor, daß die Virulenz nicht allein durch die Festigkeit gegen die bakteriziden Kräfte des Serums bedingt ist.

Es folgen nunmehr die eigentlichen Schutzversuche: Die aktive Immunisierung erfolgte mit einem Vaccin, das auf die früher geschilderte Art durch 1-stündiges Erhitzen der 24-stündigen Kulturen auf 55° hergestellt wurde.

Eine Serie der Meerschweinchen erhielt subkutane Injektionen mit je $^1/_{20}$—$^1/_{10}$ Agarkulturaufschwemmung des Ausgangsstammes Hopf, die andere Serie erhielt zu gleicher Zeit je 1 ccm der 24-stündigen aktiven Serumpassage Hopf subkutan injiziert. Entsprechende Immunisierungen mit kleineren Dosen wurden an Mäusen mit Typhus Delp vorgenommen. Zu gleicher Zeit wurden dann gleich große Tiere beider Serien und entsprechende, nicht vorbehandelte Kontrolltiere mit einer sicher tödlichen Dosis a) des Ausgangsstammes, b) des bakterizidiefesten Stammes infiziert. Das Resultat der Versuche zeigen die nachstehenden Tabellen.

Tabelle XVII (am 6. III. 1914).

Zur Ermittlung der Schutzwirkung, die a) durch Immunisierung mit dem Vaccin des Ausgangsstammes, b) durch Immunisierung mit dem Vaccin des serumfesten Stammes erreicht wird gegen eine Infektion mit dem Ausgangsstamm.

Zum Versuch werden folgende Tiere benutzt:

1) Meerschw. 46 und 49: immunisiert mit dem Vaccin des Ausgangsstammes Hopf (Agarpassage).

Injektionen: 3. II: $^1/_{20}$ Agarkultur subkutan.
12. II: $^1/_{20}$ „ „
19. II: $^1/_{20}$ „ „
26. II: $^1/_{10}$ „ „

2) Meerschw. 54 und 58: immunisiert mit dem Vaccin der aktiven Kaninchen-Serumkultur Stamm Hopf.

Injektionen: 3. II.: 1 ccm Serumkultur subkutan.
12. II.: 1 „ „ „
19. II.: 1 „ „ „
26. II.: 1 „ „ „

3) Meerschw. 17 und 18: nicht vorbehandelte Kontrolltiere.

Gewicht sämtlicher Tiere ca. 350 g.

Die Tiere werden infiziert mit je $^1/_4$ Oese 24-stündiger Agarkultur von dem Ausgangsstamm Typhus Hopf intraperitoneal.

Ergebnis nach 24 Stunden:

Meerschw. 46 und 49: leben und sind nicht krank; keine Anzeichen von Peritonitis.

Meerschw. 54 und 58: leben und sind nicht krank; keine Anzeichen von Peritonitis.

Meerschw. 17 und 18: tot.

Sektion von Meerschw. 17 und 18: Reichlich trübes sulziges Exsudat in der Peritonealhöhle; eitrige Auflagerungen auf der Leber. Im Exsudat: massenhaft gramnegative Stäbchen.

Ergebnis am 8. III. und 9. III. wie am 7. III.

Resultat: Aktive Immunisierung mit dem Vaccin des serumfesten Stammes gewährt Schutz gegen eine Infektion mit dem Ausgangsstamm; der serumfeste Stamm behält somit die Antigene des Ausgangsstammes.

Tabelle XVIII (am 10. III. 1914).

Zur Ermittlung der Schutzwirkung, die durch aktive Immunisierung mit dem Vaccin des Ausgangsstammes gegen eine Infektion mit dem serumfesten Stamm erreicht wird.

Zum Versuch werden folgende Tiere benutzt:

1) Meerschw. 47, 50, 52, 53: immunisiert mit dem Vaccin des Ausgangsstammes Hopf (Agarpassage).

Injektionen: 3. II.: $^1/_{20}$ Agarkultur subkutan.
12. II.: $^1/_{20}$ „ „
19. II.: $^1/_{20}$ „ „
26. II.: $^1/_{10}$ „ „

2) Meerschw. 21 und 22: nicht vorbehandelte Kontrolltiere.

Gewicht sämtlicher Tiere ca. 400 g.

Die Tiere werden infiziert mit je 4 ccm einer 24-stündigen aktiven Kaninchen-Serumpassage des Stammes Hopf intraperitoneal.

Krankheitsverlauf:

Nach 1 Std.: 47—53 zeigen leichte défense musculaire, die bei 21—22 fehlt.
„ 2 „ 47—53 zeigen deutliche défense musculaire, sind deutlich krank.

Nach 3 Std.: 47—53 zeigen deutliche défense musculaire, 21—22 leichte défense musculaire.
„ 4 „ sämtliche Tiere zeigen deutliche défense musculaire; 47—53 scheinen kränker als 21—22.
„ 24 „ 47, 50, 52, 53 leben und sind nicht krank; 21, 22 tot. Sektionsbefund: Peritonitis; aus dem Exsudat werden Typhusbacillen in Reinkultur gezüchtet.

Befund am 14. III.: 47, 50, 52, 53 leben und sind nicht krank.

Resultat: Immunisierung mit dem Vaccin des Typhus-Ausgangsstammes gewährt Schutz gegen eine Infektion mit dem serumfesten Stamm.

Wie aus Tabelle XVII hervorgeht, verleiht die Immunisierung mit dem serumfesten Stamm den gleichen Schutz gegen die Dosis letalis des Ausgangsstammes wie die Immunisierung mit dem Ausgangsstamm selbst; es sind also bei der Immunisierung mit dem serumfesten Stamm Antikörper gegen den Ausgangsstamm gebildet worden; diese Tatsache beweist, daß der serumfeste Stamm noch im Besitz der Antigene des Ausgangsstammes geblieben ist, daß also die Erwerbung der Bakterizidiefestigkeit nicht mit einem nachweisbaren Verlust der Antigene des Ausgangsstammes einhergeht. Jedenfalls aber ergänzt und sichert dieser Befund des Tierversuches mit Stamm Hopf das Ergebnis, das der analoge Reagenzglasversuch mit Stamm Delp geliefert hatte.

Tabelle XVIII zeigt, daß andererseits die Immunisierung mit dem Ausgangsstamm vor einer Injektion mit der Dosis letalis des bakterizidiefesten Stammes schützt; Immunisierung mit dem Ausgangsstamm führt also zur Bildung wirksamer Antikörper gegen den serumfesten Stamm. Die entsprechenden mit Stamm Delp an Mäusen ausgeführten Versuche hatten ein ganz analoges Ergebnis.

Ein Urteil über die Schutzwirkung, die die Immunisierung mit dem serumfesten Stamm gegen eine Infektion mit diesem selbst verleiht, ließ sich infolge einer durch die Versuchsanordnung gegebenen Komplikation (anaphylaktische Erscheinungen beim Meerschweinchen durch wiederholte Injektionen von Kaninchenserum) nicht gewinnen.

Die Tierversuche lehren, daß der bakterizidiefeste Typhusbacillus die Antigene des Ausgangsstammes beibehält, und daß man mit dem Ausgangsstamm gegen den bakterizidiefesten Stamm schützen kann. Der Reagenzglasversuch sowohl als auch der Tierversuch weisen somit darauf hin, daß bei der Erwerbung der bakteriziden Serumfestigkeit eine antigene Aenderung des Typhusbacillus nicht stattfindet.

VII. Morphologisches und kulturelles Verhalten.

Sämtliche verwendeten Stämme zeigten in vielfachen Prüfungen während des ganzen Verlaufes der Untersuchung keinerlei kulturelle Abweichungen, bis auf das Wachstum in Bouillon, auf das wir noch zurückkommen. Wie gezeigt worden ist, hat bereits die einmalige Passage auf Agar für einen großen Teil der festen Bakterien den Verlust der Festigkeit, also eine tiefgreifende Umwandlung des biologischen Verhaltens, zur Folge; da es nun sehr wohl möglich war, daß die einmalige Agarpassage auch in kultureller und morphologischer Hinsicht die im Serum gewachsenen Bakterien verändern könnte, zogen wir es vor, nicht Agarpassagen der Serumkulturen, sondern die 24-stündigen Serumkulturen selbst bei Anlegung des Kulturverfahrens zu benutzen.

Die vier Serumkulturen sind kulturell mit dem Ausgangsstamm identisch geblieben, wie die wiederholte Prüfung ergab. Nur eine Abweichung fiel auf: das Wachstum in Bouillon. Während der Ausgangsstamm in Bouillon eine starke Trübung aufweist, zeigt die aktive und inaktive Passage eine deutlich schwächere Trübung; wir haben diese Erscheinung bei Ueberimpfung der Normalserumpassagen in Bouillon stets beobachtet. Weit auffallender aber ist das Wachstum der Immunserumpassagen, vor allem das der inaktiven Immunserumpassage in Bouillon. Die in reaktiviertem Immunserum gezüchtete Passage trübt die Bouillon noch schwach; ein Teil der Bakterien aber wächst als flockiger Bodensatz. Der im inaktiven Immunserum gezüchtete Stamm aber trübt die Bouillon fast gar nicht mehr, sondern die große Mehrzahl der Bakterien wächst am Boden des Röhr-

chens üppig als starker Bodensatz, der sich beim Aufschütteln in grobe Flocken auflöst und Aehnlichkeit mit dem Wachstum von Streptokokken hat. Da die Möglichkeit bestand, daß dieses Wachstum im Bodensatz darauf beruhte, daß das beim Ueberimpfen der Kulturen mitübertragene Immunserum die Bakterien agglutinierte, so ließen wir den im reaktivierten und den im inaktiven Serum gezüchteten Stamm weitere Passagen in Bouillon durchmachen; die Ueberimpfung wurde dabei mit der Platinnadel (nicht Oese) vorgenommen, um möglichst vollkommen die Einwirkung des Immunserums zu eliminieren und bei der geringen Zahl überimpfter Bakterien möglichst viel neue Bakteriengenerationen sich entwickeln zu lassen. Trotzdem wiesen die Bakterien der inaktiven Immunserumpassage noch nach 15 Passagen in Bouillon dasselbe Wachstum in Form eines dicken, flockigen Bodensatzes auf. Der im reaktivierten Immunserum gezüchtete Stamm hingegen zeigte schon in der 2. Passage in Bouillon wieder diffuses Wachstum.

Die mikroskopische Untersuchung ergab folgendes: Im allgemeinen läßt sich sagen, daß die Beweglichkeit durch Züchtung im Serum gelitten hat. Der Ausgangsstamm zeigt im hängenden Tropfen durchweg lebhaft bewegliche Stäbchen und Fäden. Die im Serum gewachsenen Stämme zeigen hingegen sämtlich in den Serumkulturen vorwiegend unbewegliche Stäbchen; die im aktiven und inaktiven Normalserum gezüchteten Stämme zeigen zwischen den unbeweglichen auch lebhaft frei bewegliche Stäbchen, während die im inaktiven Immunserum gezüchteten Bakterien nur noch ganz vereinzelt Beweglichkeit zeigen (kein frei bewegliches Stäbchen fand sich im hängenden Tropfen) und die im reaktivierten Immunserum gewachsenen Bakterien überhaupt keine Spur von Beweglichkeit mehr aufweisen. Die Stäbchen haben auch die Fähigkeit, sich bei der Teilung zu trennen, zum größten Teil eingebüßt; die im aktiven Normalserum gezüchteten Stäbchen wachsen zum Teil, die anderen drei Serumkulturen fast ausschließlich in Form von langen Fäden oder dicken Knäueln und Haufen.

Wie wir sehen, sind die eben beschriebenen Veränderungen in der Wachstumsform und Beweglichkeit bei weitem aus-

geprägter bei den beiden Stämmen, die unter der Wirkung des Immunserums gestanden haben. Besonders deutlich macht sich der Unterschied in der Stärke der Wirkung geltend, wenn man das Verhalten der Stämme bei der Ueberimpfung aus dem Serum in Bouillon beobachtet. Die im Immunserum gezüchteten Stämme wachsen auch in Bouillon noch zum größten Teil in Haufen und zeigen nur vereinzelt Beweglichkeit. Besonders stark ist die Einbuße an freier Beweglichkeit bei der im inaktiven Immunserum gezüchteten Form; auch die 3., 7., 9. Passage in Bouillon zeigte noch zum größten Teil unbewegliche Fäden und Haufen; dazwischen freilich bemerkte man, allmählich zunehmend, frei bewegliche Stäbchen.

Morphologisch zeigten unsere Stämme die Differenzen, welche Bail und Rubritius ausführlich untersucht und beschrieben haben. Die Serumbakterien waren im allgemeinen deutlich dicker und plumper als die Stäbchen des Ausgangsstammes. In den aus den Serumkulturen gewonnenen Bouillonkulturen erschienen die Stäbchen gegenüber dem Ausgangsstamm ebenfalls plumper und dicker; doch waren die Unterschiede hier etwas geringer als in den Serumkulturen selbst.

Untereinander zeigten die im Serum gezüchteten vier Stämme keinerlei morphologische Unterschiede; die im aktiven Normal- und reaktivierten Immunserum gezüchteten bakterizidiefesten Stämme waren mit den im inaktiven Normal- und inaktiven Immunserum gezüchteten Stämmen, die bakterizidieempfindlich waren, morphologisch vollständig identisch.

Aus dieser Tatsache geht hervor, daß die bei Wachstum im Serum erfolgenden morphologischen Veränderungen, wie sie Bail und Rubritius feststellten, sich völlig unabhängig von den biologischen Veränderungen vollziehen; zwischen morphologischer Veränderung und Serumfestigkeit besteht kein Zusammenhang.

VIII. Agglutinationsversuche.

Zahlreiche Befunde von schwer agglutinablen Stämmen weist die Literatur auf. Wieder zeigen insbesondere frisch aus dem Körper gezüchtete Stämme Herabsetzung oder sogar

Aufhebung der Agglutinabilität; nach mehrfachen Passagen auf künstlichen Nährböden wurden aber die Stämme meist wieder leicht agglutinabel (z. B. Rodet, Kirstein etc.). Die Beobachtung, daß gerade solche Stämme häufig schwer agglutinabel sind, die unter dem Einfluß der Körperwirkungen stehen, hat mehrere Autoren veranlaßt, die Inagglutinabilität solcher Stämme künstlich dadurch zu erzielen, daß sie ursprünglich gut agglutinable Stämme unter die Wirkung des agglutinierenden Serums stellten. So fand Bail, daß die bei peritonealer Infektion von Meerschweinchen im Peritonealexsudat gewachsenen Bakterien schwer oder inagglutinabel wurden.

Es gelang ferner Bail, Paul Th. Müller und Walker, die Agglutinabilität der Typhusbacillen dadurch herabzusetzen. daß sie der Bouillon, in der sie durch viele Passagen die Bakterien züchteten, Immunserum zusetzten. Müller erreichte durch diese Züchtung Herabsetzung der Agglutinabilität in Titer und Grad. Da derselbe Autor in Absorptionsversuchen fand, daß diese schwer agglutinablen Stämme dem Immunserum weniger Agglutinin zu entziehen vermochten als die gut agglutinierten, so sah er die Herabsetzung der Agglutinabilität als Folge eines Rezeptorenschwundes der Bakterien an.

Aus allen diesen Versuchen geht hervor, daß die unter der Wirkung des Serums stehenden Typhusbacillen ihre Agglutinabilität bis zu einem gewissen Grade einbüßen können. Die weitere Frage geht nun dahin, ob diese gegenüber der Agglutination sich entwickelnde Serumfestigkeit mit Bakterizidiefestigkeit parallel geht, oder ob die Resistenz gegen Agglutination und Bakterizidie unabhängig voneinander ist. Während Bail einen Zusammenhang zwischen diesen Eigenschaften konstatierte, fanden andere Autoren (Neufeld und Lindemann) schwer agglutinable Stämme, die sich trotzdem als serumempfindlich erwiesen. Die vergleichende Untersuchung unserer im aktiven und inaktiven Normal- und Immunserum gezüchteten Stämme in bezug auf die Agglutination schien uns geeignet, diese Frage zu klären.

Es schien dies um so mehr der Fall zu sein, als uns, im Gegensatz zu vielen der früheren Untersucher, wirksame,

mit den Stämmen selbst erzeugte Immunsera zur Verfügung standen; es fallen dadurch Schwankungen der Resultate fort, die, wie Scheller, Friedberger und Moreschi u. a. festgestellt haben, dadurch vorkommen, daß verschiedene Typhusstämme sich den Immunseris gegenüber in bezug auf Agglutinabilität different verhalten. Es wurden stets wieder die 5 Stämme gegenüber einem Immunserum gleichzeitig geprüft. Die Versuche wurden mit Agarkulturen nach der von Kolle angegebenen Methode ausgeführt. Die Agglutination wurde stets bei Zimmertemperatur nach 2 Stunden und nach 24 Stunden beobachtet.

Der stärkste Grad der Agglutination, bei dem die Bakterien vollständig zu Boden gerissen waren, so daß die darüber stehende Flüssigkeit völlig klar war, wurde als +++ bezeichnet; der mittlere Grad der Agglutination, bei dem neben starkem Bodensatz deutliche Trübung der Flüssigkeit vorhanden war, wurde durch ++ gekennzeichnet; + wurde eine mit dem Auge noch wahrnehmbare Agglutination genannt. War die Agglutination nur mit der Lupe wahrzunehmen, so wurde dies ausdrücklich bemerkt.

Tabelle XIX (am 16. XII. 1913).

Die Agglutinierbarkeit des im aktiven, des im inaktiven normalen Kaninchenserum gezüchteten, sowie des im reaktivierten und des im inaktiven Kaninchen-Immunserum gezüchteten Typhusstammes und des Typhus-Ausgangsstammes durch ein mit dem Ausgangsstamm gewonnenes Immunserum wird geprüft.

Zur Untersuchung kommen die auf Agar abgeimpften 24-stündigen Kulturen folgender Stämme:

St. A: ist der durch 73 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist der durch 73 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. C: ist der durch 44 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 29 Passagen in reaktiviertem Kaninchen-Immunserum gezüchtete Stamm,

St. D: ist der durch 23 Passagen in inaktivem Kaninchen-Immunserum gezüchtete Stamm,

St. E: ist der Ausgangsstamm.

Als Immunserum wird das mit dem Ausgangsstamm gewonnene Immunserum No. 762 benutzt.

In je 1 ccm der mit 0,85-proz. NaCl-Lösung hergestellten Serumverdünnung wird 1 Oese Kultur verrieben.

Ergebnis nach 2 Stunden bei Zimmertemperatur.

Serumverdünnung	St. A	St. B	St. C	St. D	St. E
$^1/_{100}$	++	+	+	0	+++
$^1/_{200}$	+	+	+	0	+++
$^1/_{400}$	Aggl. m. d. Lupe	+	Aggl. m. d. Lupe	0	+++
$^1/_{800}$	dgl.	Aggl. m. d. Lupe	schwache Aggl. m. d. Lupe	0	++
$^1/_{1600}$	dgl.	dgl.	dgl.	0	+
$^1/_{3200}$	schwache Aggl. m. d. Lupe	?	?	0	+
$^1/_{6400}$	0?	0	0	0	?
$^1/_{12800}$	0	0	0	0	0
Kontrolle	0	0	0	0	0

Ergebnis nach 24 Stunden.

Serumverdünnung	St. A	St. B	St. C	St. D	St. E
$^1/_{100}$	+++	+	+++	+	+++
$^1/_{200}$	+++	+	+++	+	+++
$^1/_{400}$	+++	+	+++	+	+++
$^1/_{800}$	+++	+	++	+	+++
$^1/_{1600}$	+	+	+	schwache Aggl. m. d. Lupe	+++
$^1/_{3200}$	+	+	+	sehr schwache Aggl. m. d. Lupe	++
$^1/_{6400}$	+	+	+	0	Aggl. m. d. Lupe
$^1/_{12800}$	schwache Aggl. m. d. Lupe	0	0	0	0
Kontrolle	0	0	0	0	0

Resultat: Im Verhältnis zum Ausgangsstamm werden die Serumkulturen langsamer agglutiniert. Die im inaktiven Serum gezüchteten Stämme werden viel schwächer agglutiniert als die im aktiven Serum gezüchteten, welche an Stärke der Agglutination kaum hinter dem Ausgangsstamm zurückstehen. Im Titer bleibt nur die inaktive Immunserum-Kultur zurück. Die Agglutinierbarkeit der im aktiven Normal- und Immunserum gezüchteten Stämme erscheint demnach wenig gegenüber dem Ausgangsstamm verändert, die Agglutinierbarkeit der im inaktiven Normal- und Immunserum gezüchteten Stämme ist stark beeinträchtigt.

Tabelle XX (am 5. I. 1914).

Die Agglutinierbarkeit der einmal auf Agar abgestochenen 24-stündigen Kulturen folgender Stämme durch ein mit dem bakterizidiefesten Stamm hergestelltes Immunserum wird geprüft.

St. A: ist der durch 92 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist der durch 92 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. C: ist der durch 44 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 48 Passagen in reaktiviertem Kaninchen-Immunserum gezüchtete Stamm,

St. D: ist der durch 42 Passagen in inaktivem Kaninchen-Immunserum gezüchtete Stamm,

St. E: ist der Ausgangsstamm.

Als Immunserum wird das mit dem bakterizidiefesten Stamm gewonnene Immunserum No. 766 benutzt.

Je 1 mittlere Oese Kultur wird in 1 ccm der mit 0,85-proz. NaCl-Lösung hergestellten Serumverdünnung verrieben.

I. Ergebnis 2 Stunden nach Fertigstellung der Agglutination jedes Stammes bei Zimmertemperatur.

Serumverdünnung	St. A	St. B	St. C	St. D	St. E
1/100	+++	+	+++	0	+++
1/200	++	Aggl. m. d. Lupe	++	0	+++
1/400	+	schwache Aggl. m. d. Lupe	+	0	++
1/800	Agglutinat. mit der Lupe	sehr schwache Aggl. m. d. Lupe	Agglutinat. mit der Lupe	0	++
1/1600	?	0	?	0	+
1/3200	0	0	0	0	starke Aggl. mit der Lupe
1/6400	0	0	0	0	Agglutinat. mit der Lupe
1/12800	0	0	0	0	0
Kontrolle	0	0	0	0	0

II. Ergebnis nach 24 Stunden.

Serumverdünnung	St. A	St. B	St. C	St. D	St. E
1/100	+++	++	+++	0	+++
1/200	+++	++	+++	0	+++
1/400	++—+++	+	++—+++	0	++
1/800	++	+	++	0	++
1/1600	+	+	+	0	+
1/3200	+	Aggl. m. d. Lupe	Agglutinat. mit der Lupe	0	+
1/6400	schw. Agglut. mit der Lupe	sehr schwache Aggl. m. d. Lupe	0	0	Agglutinat. mit der Lupe
1/12800	0	0	0	0	0
Kontrolle	0	0	0	0	0

Resultat: Das mit dem festen Stamm erzeugte Immunserum wirkt agglutinatorisch auf die Stämme wie das mit dem Ausgangsstamm gewonnene Serum.

Man ersieht aus den Versuchen folgendes: Die mit dem Ausgangsstamm und mit dem bakterizidiefesten Stamm hergestellten Immunsera verhalten sich in ihrer agglutinierenden Wirkung allen 5 Stämmen gegenüber vollständig gleich. Es ist also auch in bezug auf Agglutinogene eine Verschiedenheit des bakterizidiefesten Stammes und des Ausgangsstammes nicht nachweisbar. Die Stämme untereinander zeigen hingegen deutlich ausgeprägte Unterschiede in ihrer Agglutinabilität.

Es müssen drei Momente besonders beobachtet werden:

1) die Schnelligkeit des Agglutinationseintrittes,
2) der Grad der Agglutination,
3) der Agglutinationstiter.

Alle im Serum gezüchteten Stämme werden langsamer agglutiniert als der Ausgangsstamm; dies zeigt sich deutlich beim Betrachten der Resultate nach 2 Stunden. Nach 24 Stunden sind die Verhältnisse aber anders. Der im aktiven Normalserum und der im reaktivierten Immunserum gezüchtete Stamm wird jetzt nahezu ebenso stark agglutiniert wie der Ausgangsstamm, während die inaktive Normalserum-Kultur viel schwächer, die inaktive Immunserum-Kultur ganz wenig oder gar nicht agglutiniert wird. Die Unterschiede machen sich dabei, wenn wir von der nahezu agglutinationsfesten inaktiven Immunserum-Kultur absehen, in der Stärke der Agglutination geltend, während der Titer des Serums den Stämmen gegenüber gleich bleibt. Wir sehen also: Zwar werden alle Serumkulturen langsamer agglutiniert als der Ausgangsstamm, doch werden allmählich die in den aktiven Seris gezüchteten Stämme ebenso hoch agglutiniert wie dieser. Züchtung in den inaktiven Seris aber ruft die Entwicklung einer Agglutinationsfestigkeit hervor, die sich in der inaktiven Normalserum-Kultur teilweise, in der inaktiven Immunserum-Kultur nahezu vollständig ausgebildet hat.

Wir haben die Agglutinationsversuche auch mit den mit Formol abgetöteten Bouillonkulturen nach der von Neisser und Pröscher angegebenen Methode vorgenommen; wir lassen das Protokoll eines solchen Versuches folgen:

Tabelle XXI (am 27. XII. 1913).

Die Agglutinierbarkeit der Formolbouillonkulturen folgender Stämme durch ein mit dem Ausgangsstamm hergestelltes Immunserum wird geprüft.

St. A: ist der durch 80 Passagen in aktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. B: ist der durch 80 Passagen in inaktivem Kaninchenserum gezüchtete Stamm,

St. C: ist der durch 44 Passagen in aktivem Kaninchenserum, dann durch 36 Passagen in reaktiviertem Immunserum gezüchtete Stamm,

St. D: ist der durch 30 Passagen in inaktivem Immunserum gezüchtete Stamm,

St. E: ist der Ausgangsstamm.

Als Immunserum wird das mit dem Ausgangsstamm hergestellte Immunserum No. 763 benutzt.

Zu je 0,5 ccm der mit 0,85-proz. NaCl-Lösung hergestellten Serumverdünnung wird 0,5 ccm der Formolbouillonkultur zugesetzt.

I. Ergebnis nach 2 Stunden.

Serumverdünnung	St. A	St. B	St. C	St. D	St. E
1/100	++	++	++	+	+++
1/200	++	++	+	+	+++
1/400	++	++	+	+	++
1/800	+	+	+	+	++
1/1600	+	+	+	+	+
1/3200	+	schw. +	schw. +	schw. +	+
1/6400	schw. +	schw. +	?	?	schw. +
1/12800	0	?	?	?	0
Kontrolle	0	0	0	0	0

II. Ergebnis nach 24 Stunden.

Serumverdünnung	St. A	St. B	St. C	St. D	St. E
1/100	+++	+++	+++	++	+++
1/200	+++	+++	+++	++	+++
1/400	+++	+++	+++	++	+++
1/800	+++	+++	+++	++	+++
1/1600	+++	+++	++	++	+++
1/3200	++	+++	++	+	+++
1/6400	++	++	+	+	+++
1/12800	+	++	+	+	+++
Kontrolle	0	0	0	0	0

Resulat: Die Formolbouillonkulturen der im Serum gezüchteten Stämme verhalten sich ähnlich wie die Agarkulturen derselben; sie sind aber leichter agglutinabel.

Wie man aus den Tabellen ersieht, zeigt der Versuch, wenn auch nicht so deutlich wie die vorhergehenden Versuche, die vorher festgestellten Tatsachen; auch hier bleibt die im inaktiven Immunserum gewachsene Kultur deutlich in ihrer Agglutinabilität hinter den anderen Stämmen zurück. Die geringere Ausprägung der Unterschiede in den Formolbouillonkulturen ist zweifellos zum Teil darin begründet, daß die Formolkulturen überhaupt wesentlich leichter und stärker agglutiniert werden als Agarkulturen; wir haben diese Tatsache bei der Austitrierung unserer Immunsera wiederholt beobachten können.

Faßt man das Resultat der Agglutinationsversuche zusammen, so findet man, daß die Agglutinationsfestigkeit keine völlige ist, sondern nur bis zu einem gewissen Grade sich ausbildet und daß die Entwicklung der Agglutinationsfestigkeit gehindert wird durch die Anwesenheit von Komplement. Vergleicht man die Bakterizidiefestigkeit unserer Stämme mit ihrer Resistenz gegen Agglutination, so kommt man zu dem Ergebnis, daß die Entwicklung dieser beiden Eigenschaften vollständig voneinander getrennt verläuft. Die beiden Stämme, die durch eine auf nahezu 100 Passagen ausgedehnte Züchtung im inaktiven Normal- und Immunserum nicht den geringsten Grad von Bakterizidiefestigkeit erlangt haben, erweisen sich als schwer agglutinabel, während andererseits die Züchtung in aktivem Normalserum und reaktiviertem Immunserum zwar zur Ausbildung kompletter bakterizider Serumfestigkeit, nicht aber zur Entwicklung einer nennenswerten Agglutinationsfestigkeit geführt hat.

Zusammenfassung.

1) Durch Züchtung in aktivem normalen Kaninchenserum erwerben Typhusbacillen im Laufe weniger Passagen eine Festigkeit gegen die bakterizide Serumwirkung (Bakterizidiefestigkeit) von aktivem normalen Kaninchenserum, Meerschweinchenserum, Menschenserum und Typhusrekonvaleszentenserum. Die Serumfestigkeit ist also nicht spezifisch. Auch gegen reaktiviertes Kaninchen-Immunserum sind sie fest.

2) Die Festigkeit geht durch eine Agarpassage fast völlig verloren; sie hält sich in Bouillonpassagen etwas länger.

3) Diese Festigkeit entsteht nur bei Züchtung im aktiven Serum. In inaktivierten Immunseris und in inaktivierten Normalseris entsteht sie nicht.

4) Die Immunisierung mit dem festen Stamm ergibt Sera, die im bakteriziden Plattenversuch gegen den Ausgangsstamm stark, gegen den homologen festen Stamm gar nicht wirksam sind.

5) Die im aktiven und im inaktiven Serum gezüchteten Stämme zeigen untereinander morphologisch keine Unterschiede; sie unterscheiden sich aber morphologisch von den Bakterien aus Agar- oder Bouillonkulturen. Die morphologische Veränderung bei Züchtung im Serum hat aber mit der Bakterizidiefestigkeit nichts zu tun.

6) Der im inaktiven Immunserum gezüchtete Stamm wächst viele serumfreie Bouillonpassagen hindurch als Bodensatz, ohne Trübung der Bouillon.

7) Bis auf diesen Unterschied verhalten sich die in aktiven oder inaktiven Seris gezüchteten Stämme kulturell wie der Ausgangsstamm.

8) Eine Steigerung der Virulenz des bakterizidiefesten Stammes gegenüber dem Ausgangsstamm ist nicht nachweisbar.

9) Die im inaktiven Immunserum oder Normalserum gezüchteten Stämme werden schwer agglutinabel. Während die Anwesenheit des Komplements für die Entstehung der Bakterizidiefestigkeit unbedingt erforderlich ist, hindert sie die Ausbildung der Inagglutinabilität. Der Mechanismus der Entstehung der Bakterizidiefestigkeit ist also verschieden von dem der Inagglutinabilität.

10) Trotzdem der serumfeste Stamm im Plattenversuch völlig gegen die Serumwirkung geschützt ist, läßt sich doch im Tierversuch ein immunisatorischer Schutz gegen ihn erreichen, und zwar durch Immunisierung mit dem nicht serumfesten Ausgangsstamm. Umgekehrt schützt im Tierversuch die Immunisierung mit dem serumfesten Stamm die Tiere ebenso gut gegen eine Infektion mit dem Ausgangsstamm, wie es eine Immunisierung mit dem letzteren tut.

Der immunisatorische Schutz des Tieres gegen den serumfesten Stamm kann nicht direkt mit der bakteriziden Serumwirkung erklärt werden.

Literaturverzeichnis.

1) Bail und Rubritius, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 43, Heft 7.
2) Besserer und Jaffé, Deutsche med. Wochenschr., 1905, No. 51.
3) Braun und Teichmann, Versuche zur Immunisierung gegen Trypanosomen. Jena, G. Fischer, 1912.
4) — und Feiler, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 21, 1914, p. 447—462.
5) Cohn, E., Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh., Bd. 45, p. 63.
6) Ehrlich und Gonder, Chemotherapie. Handbuch von Kolle-Wassermann, 2. Auflage.
7) Friedberger, E., Die bakteriziden Sera. Handbuch von Kolle-Wassermann, 2. Auflage.
8) — Festschrift f. E. Salkowski, Berlin 1904.
9) — und Moreschi, Berl. klin. Wochenschr., 1905, No. 45.
10) — — Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 39, Heft 4.
11) Fornet, Immunität bei Typhus. Handbuch von Kolle-Wassermann, 2. Auflage.
12) Müller, P. Th., Münch. med. Wochenschr., 1903, No. 2.
13) Neisser, M., und Wechsberg, Münch. med. Wochenschr., 1901.
14) Neufeld und Lindemann, Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 54, 1912.
15) Paltauf, Agglutination. Handbuch von Kolle-Wassermann, 2. Auflage.
16) Schlemmer, Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therap., Orig., Bd. 9, 1911, Heft 2.
17) Trommsdorff, Arch. f. Hygiene, Bd. 39, 1901, p. 31.
18) Tsuda, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 48, p. 277.
19) Walker, Journ. of Path. and Bact., Vol. 8, 1902, No. 81.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4527

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XXIV. No. 5.

[Aus der pathologischen Abteilung der Vanderbilt Medical School, Nashville, Tenn. (Direktor: Prof. Dr. James W. Jobling).]

Studien über Serumfermente und -antifermente.

Von

James W. Jobling, William F. Petersen und **A. A. Eggstein.**

Mit 11 Kurven im Text.

(Eingegangen bei der Redaktion am 16. Juli 1915.)

Durch den gewaltigen Fortschritt der Fermentforschung der letzten Jahre, für deren Anregung wir Abderhalden und seinen Mitarbeitern verpflichtet sind, und durch den Ausbau der Theorie der Entstehung von Intoxikationen durch Eiweißspaltprodukte, woran besonders Vaughan, Kraus, Friedberger, Pfeiffer und Zunz neben anderen tätig gewesen, hat die Immunitätsforschung eine verheißungsvolle Anregung bekommen, deren Ertrag nicht nur theoretisch, sondern auch therapeutisch vielversprechend ist.

Freilich finden wir, wenn wir unserer Unzufriedenheit mit den bis jetzt errungenen Kenntnissen über die Reaktionskörper, welche den Immunitätserscheinungen zugrunde liegen, dadurch einen Ausdruck geben, daß wir uns zu den Fermenten wenden, die Sachlage durch Teilerscheinungen und begrenztes Tatsachenmaterial fast ebenso erschwert. Nur dadurch wird ein Vordringen erleichtert, daß wir bei dem Studium der Fermente nicht notwendig auf den pathologischen Zustand angewiesen sind, daß wir mit Präparaten arbeiten können, deren Wirkung wir als fast einheitlich annehmen dürfen, sowie durch Analogien, auch zum Pflanzenreich, mit mancher bekannten Erscheinung Anhalt finden.

Am Anfang unserer Studien über die Fermentwirkung suchten auch wir, wohl durch Vaughans sowie durch Abderhaldens Behauptungen beeinflußt, die Lösung mancher Fragen in der Wirkung von spezifischen Proteasen, welche natürliches

Eiweiß zerlegen könnten, besonders da das experimentelle Tatsachenmaterial sich fast ausschließlich so deuten ließ.

Dagegen wirkte aber die Tatsache gewissermaßen befremdend, daß man von spezifischen Proteasen sonst in den verschiedensten Verhältnissen nichts kennt, daß die Verdauung trotz Vorhandensein eines starken Antiferments vor sich gehen soll, daß das Ferment sehr schnell zur Erscheinung gebracht werden kann, doch wichtiger vielleicht die Tatsache, daß gegen einfaches Eiklar kein verdauendes Ferment gebildet wird.

Wir beschäftigten uns zuerst mit einer Orientierung über das Serumantiferment und zeigten, daß man diese Eigenschaft auf die ungesättigten Lipoide zurückzuführen hat. Durch Dispersitätsveränderungen, durch Absättigung der ungesättigten Atome, sowie durch Adsorption läßt sich die antifermentative Eigenschaft verringern. Auch durch Aether, noch besser durch Chloroform wird das Antiferment beseitigt, wobei es im Serum zur Eiweißspaltung kommt mit der Entwicklung von Giftigkeit (Serotoxin). So beruht auch die Anaphylatoxinbildung auf einem entsprechenden Adsorptionsphänomen des Antiferments.

Daraufhin ließ sich leicht eine quantitative Methode zur Bestimmung der Serumprotease ausarbeiten, etwa wie folgt:

1 ccm Serum wird in je zwei Röhrchen gebracht, davon eins für 30 Minuten bei 60° C inaktiviert, dem dann 1 Tropfen Toluol zugefügt wird. Zu dem zweiten werden etwa 0,75 ccm Chloroform zugesetzt und so lange kräftig geschüttelt, bis eine feine milchartige Emulsion entsteht. Die Röhrchen werden dann über Nacht — 16 bis 18 Stunden — in den Brutschrank gestellt. Am Morgen wurd durch 1 ccm einer 20-proz. Salz- und 10-proz. essigsauren Lösung ausgefällt und das Chloroform vorsichtig auf dem Wasserbade verdunstet. Nach der völligen Entfernung des Chloroforms wird ein paar Minuten gekocht, dann noch etwa 2 oder 3 ccm Salzlösung zugefügt und weitere 10 Minuten gekocht. Es wird nun durch hartes Papier filtriert, das Filtrat wird direkt in den langen Jenaer Röhrchen aufgefangen, welche bei der Folinschen Methode zur Oxydation Anwendung finden, und der Stickstoff wird dann kolorimetrisch bestimmt.

Die eventuelle Zunahme an unausfällbarem Stickstoff in dem Chloroformröhrchen kann dann als quantitatives Maß der Proteasewirkung gebraucht werden. Hierbei handelt es sich sicher um eine echte Protease, ein Verwechseln mit Peptase oder Ereptase ist ausgeschlossen. Hingegen

ist bei der optischen, sowie bei der Dialysiermethode diese Möglichkeit nicht nur nicht ausgeschlossen, sondern es deutet manches darauf hin, daß wir es dabei gerade mit einer ereptischen Wirkung zu tun haben. Wir haben schon früher erwähnt, daß die proteolytische Wirkung auf diese Weise festzustellen wäre, doch fällten wir das Serum erst mit Alkohol nach der Beseitigung des Antiferments und benützten dann das getrocknete Präzipitat zugleich als Ferment und Substrat. Die Alkoholfällung ist aber nicht nur völlig unnötig, sondern scheint das Ferment etwas mehr hitzebeständig zu machen.

Zu gleicher Zeit zeigten wir, daß bei der Abderhalden-Reaktion von einer Verdauung des spezifischen Substrates nichts zu beobachten ist, da der Stickstoffgehalt der Placenta während der Verdauung zunimmt, daß im Gegenteil eine erhöhte Widerstandskraft gegen Trypsin zu konstatieren ist, durch eine Adsorption von Antiferment bedingt. Die Verdauungsprodukte stammen demnach aus dem Serum und nicht aus dem spezifischen Substrate.

Methode.

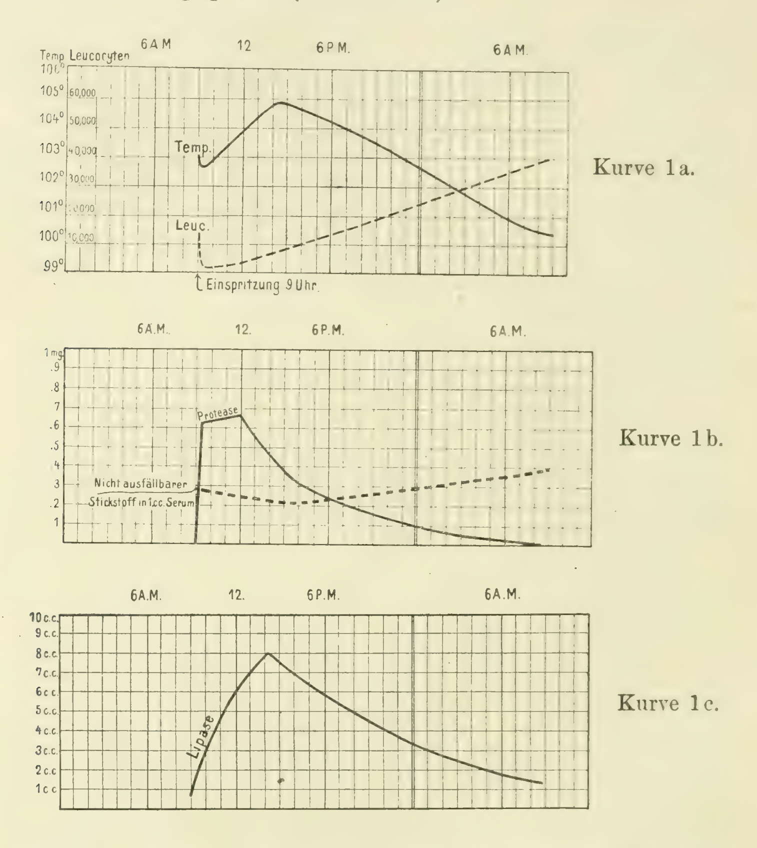
Außer der Proteasebestimmung wurde an jedem Serum der Lipasetiter in der üblichen Weise festgestellt. Auf den Kurven wird die Säureentwicklung als $N/_{100}$ NaOH dargestellt, welche durch 1 ccm Serum in 4 Stunden bei 37° C von 1 ccm Aethylbutyrat abgespalten wird. Der Antifermenttiter wurde nicht mit der Groß-Fuldschen Methode direkt abgelesen, sondern durch genaue Feststellung des verdauten Kaseinrestes mit der Folinschen Methode bestimmt. Aminostickstoff wurde mit dem Van Slykeschen Apparate, wozu 1 ccm Serum direkt zur Verwendung kam, bestimmt. Albumosen wurden folgendermaßen quantitativ bestimmt: 5 ccm Serum wurden durch gründliches Ansäuern und Kochen gefällt, durch hartes Papier filtriert und das Filtrat mit Natriumsulfat kochend gesättigt, kochend filtriert, und die so erhaltenen Albumosen von dem Filter durch $N/_{10}$ Na_2CO_3 abgespült und in lange Jenaer Röhrchen übertragen, worauf Stickstoffbestimmungen gemacht wurden. Alle Experimente wurden an Hunden ausgeführt.

Trypsinvergiftung.

Wir untersuchten zuerst die Serumfermente nach der Trypsininjektion. Kirchheim hat die Trypsinvergiftung schon eingehend studiert und schloß, daß die Giftigkeit mit der Aktivität des Ferments parallel ging. Er hob den Zusammenhang zwischen Trypsin, Pepton und anaphylaktischem Shock hervor. Zu unseren Experimenten gebrauchten wir ein sehr

aktives Präparat, welches von Verunreinigungen durch wiederholtes Ausfällen gereinigt war.

Hund No. 6, Gewicht 5 kg. 0,2 g Trypsin in 10 ccm Salzlösung 9 Uhr intravenös eingespritzt. (Kurve 1 a—c.)



Kurve 1a.

Kurve 1b.

Kurve 1c.

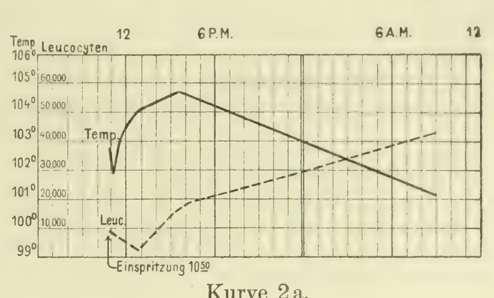
Wie zu ersehen, fand sofort nach der Einspritzung eine bedeutende Steigerung der Protease und Lipase im Serum statt. Das Blut wurde ungerinnbar, das Gesamtbild ähnelt dem anaphylaktischen Shock.

Hund No. 14, Gewicht 9,5 kg. 0,1 g Trypsin 10^{50} morgens intravenös eingespritzt. (Kurve 2 a—c.)

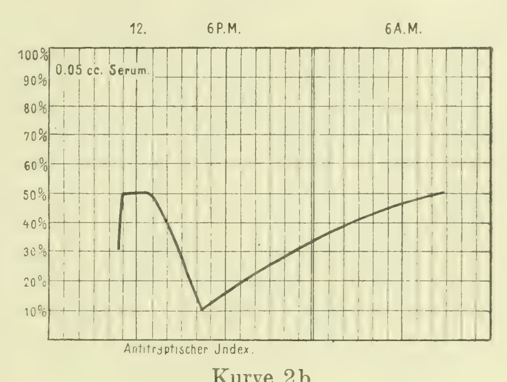
Der Hund zeigte Symptome ähnlich dem ersten, dagegen fand aber die Fermentsteigerung nicht sofort, sondern erst einige Zeit nach der Injektion statt. Auch das Antiferment

stieg zuerst, statt, wie gewöhnlich, eine sofortige Herabsetzung zu zeigen, und nahm erst gegen Nachmittag ab.

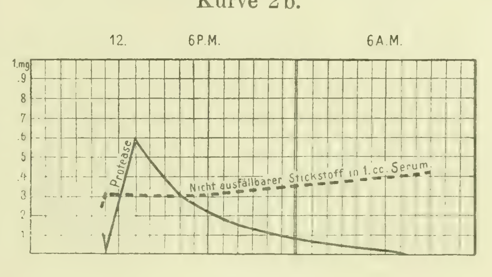
Gegenüber der Behauptung Kirchheims fanden wir, daß das inaktivierte Trypsin sich fast ebenso giftig erwies, wie das aktive Präparat. Zu ganz ähnlichen Beobachtungen ist neuerdings Ishiwara gekommen.



Kurve 2a.



Kurve 2b.



Kurve 2c.

Man wird natürlich annehmen, daß die Protease, welche sofort nach der Einspritzung im Serum nachzuweisen ist, dasselbe Ferment darstellt, welches eingespritzt wurde. Dagegen spricht aber das zweite Experiment, in dem 10 Minuten nach der Injektion noch keine Erhöhung des Titers stattgefunden hatte, sowie die Tatsache, daß die Serumverdauung bei alkalischer Reaktion fast aufgehoben wird und sich erst bei neutraler oder schwach saurer Reaktion vollzieht, also direkt im Gegensatz zur tryptischen Verdauung. Es wird daher sehr wahrscheinlich, daß die Protease von den Körperzellen selbst stammt und nicht das injizierte Trypsin darstellt.

Gewöhnlich findet während des Shocks eine Verminderung des Antifermenttiters statt. Kirchheim beobachtete, daß

diese Verminderung in keinem Verhältnis zu der Menge und der Aktivität des eingespritzten Ferments stand, und schloß daraus, daß es nicht als Absättigung gedeutet werden konnte. Betrachten wir aber die Fermentsteigerung als eine Mobilisation, von den Körperzellen stammend, so ist eine derartige Erklärung nicht ausgeschlossen. Doch ist es möglich, daß die Antifermentverminderung eher von Dispersitätsveränderungen herrührt, indem in einer gröberen Dispersion die ungesättigten Lipoide weniger aktiv sind, als in einer feineren. Subkutane Einspritzung, sowie Fütterung von Trypsin bewirkten wenig oder keine Veränderung, dagegen wurden nach der intestinalen Einspritzung ganz bedeutende Schwankungen hervorgerufen.

Anaphylaktischer Shock.

Die soeben geschilderten Beobachtungen sind ähnlich denen, welche man während des akuten anaphylaktischen Shocks findet. Die erste Injektion eines fremden Eiweißes ist von sehr geringen Serumveränderungen gefolgt, es findet 4—6 Stunden nach der Einspritzung eine geringe Steigerung der Protease statt, es kann aber auch zuweilen eine Herabsetzung vorkommen; der Lipasetiter zeigt entweder keinen oder nur mäßigen Anstieg. Antiferment, Aminostickstoff, sowie Proteasen bleiben fast unverändert. Nach der sensitivierenden Injektion hat hingegen eine Wiederinjektion eine Mobilisation von Protease und Lipase zur Folge, welche an Umfang und Erscheinungsgeschwindigkeit nach etwa 15 Tagen den Höhepunkt erreicht.

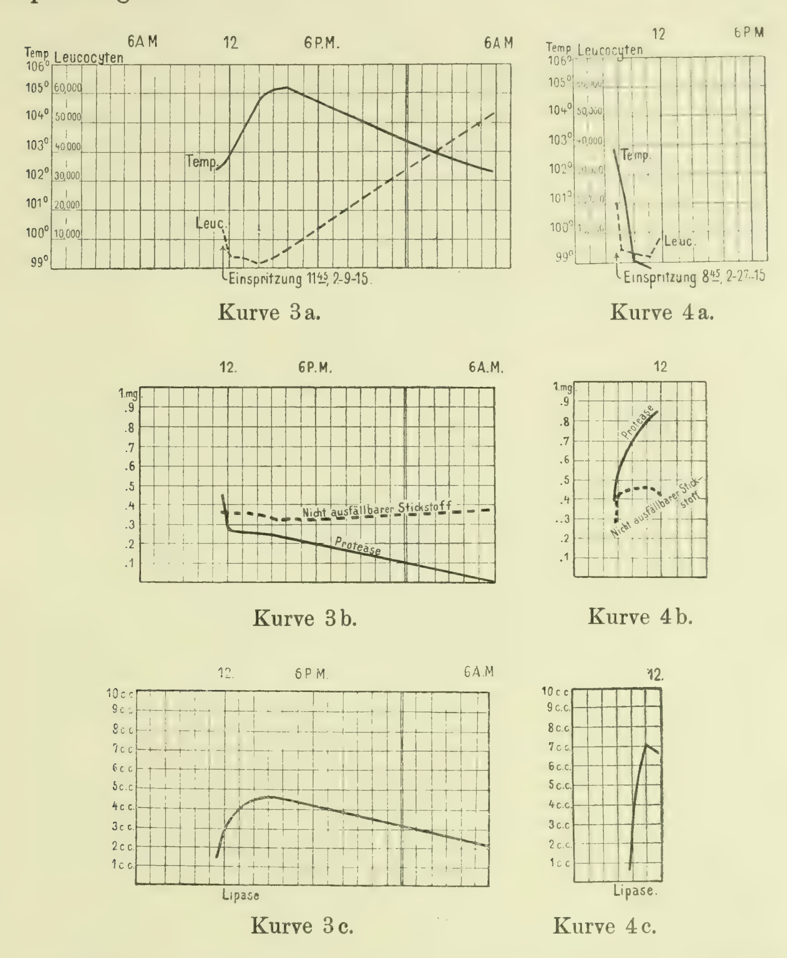
Hund No. 15, Gewicht 8 kg. Sensitivierende Einspritzung von 1 g Pferdeserum-Albumin intravenös am 9. II. 11^{15} morgens. (Kurve 3a—c.)

Es erfolgte darauf eine Temperaturerhöhung, sowie Leukopenie, doch zeigte der Hund wenig andere Symptome. Die Serumprotease nahm ab, aber die Serumlipase zeigte immerhin eine recht ausgeprägte Erhöhung.

Die Reinjektion wurde am 27. II. 1915 vorgenommen. (Kurve 4a—c.) Es wurde um 8^{45} morgens 1 g desselben Antigens eingespritzt, worauf der Hund sofort sehr krank wurde und gegen 11^{45} morgens starb.

Die Serumveränderungen bestanden in einer bedeutenden Verminderung des Antiferments, einer Steigerung des nicht-

ausfällbaren Stickstoffes, der Protease und Lipase. Die durch Sättigung des Serums erhaltenen Albumosen nahmen zuerst nach der Injektion bedeutend ab, zeigten aber später eine Zunahme. Die Aminosäuren nahmen sofort nach der Einspritzung zu.



Kurve 3a. Kurve 4a.

Kurve 3b. Kurve 4b.

Kurve 3c. Kurve 4c.

Zunz und György haben vor kurzem die Anhäufung von Aminosäuren während des Shocks beobachtet und schlossen daraus, daß die Aminosäuren als Spaltungsprodukt des Antigens zu betrachten seien. Wäre dieses nun tatsächlich der Fall, so sollte demgemäß als Zwischenstufe der

Spaltung auch sofort eine Anhäufung von anderen Spalt produkten stattfinden, also auch von Albumosen. Statt dessen aber finden wir eine Verminderung der Albumosen als Begleiterscheinung während der ersten Zeit des Shocks. Es ist daher wahrscheinlicher, daß die Vermehrung der Aminosäuren aus dem Serum selbst stammt. Demgemäß ist auch das folgende Experiment zu deuten. Zunz und György lassen das Serum des sensitivierten Tieres in vitro mit dem Antigen verdauen und erhalten darauf eine Vermehrung von Aminosäuren, welche sie als Verdauungsprodukt des Antigens betrachten. Wiederholen wir aber ein solches Experiment und gebrauchen fallende Mengen von Antigen mit einer konstanten Menge Serums, so daß in den letzten Röhrchen nur minimale Quantitäten Antigens vorhanden sind, worin wegen Mangels an genügend spezifischem Substrat die Verdauung sistieren sollte, so finden wir die Tatsachen ganz anders.

Tabelle I.

Röhrchen No.	Serum No. 56 (sensitiviert)	Antigen (Pferdeserum-Albumin)	Stickstoff im Substrat enthalten	Aminostickstoff in 1 ccm der Mischung nach der Verdauung	Zunahme an Aminosäuren pro 1 ccm
1	1 ccm	1 ccm 1 %	0,74 mg	0,279 mg	0,034 mg
2	1 „ (inaktiv.)	1 „ 1 „	0,74 „	0,245 „	
3	1 „	1 „ 0,1 „	0,074 „	0,245 „	0,055 mg
4	1 „ (inaktiv.)	1 „ 0,1 „	0,074 „	0,190 „	
5	1 „	1 „ 0,01 „	0,0074 „	0,256 „	0,078 mg
6	1 „ (inaktiv.)	1 „ 0,01 „	0,0074 „	0,178 „	
7	1 „	1 „ 0,001 „	0,00074 „	0,268 „	0,078 mg
8	1 „ (inaktiv.)	1 „ 0,001 „	0,00074 „	0,190 „	

Es stellte sich also heraus, daß in den Röhrchen 7 und 8, wo eine Substratmenge von nur 0,00074 mg vorhanden sein konnte, eine Zunahme von 0,156 mg Aminosäuren erreicht wurde.

Fällt aber die Idee, daß es das Antigen ist, welches die giftigen Spaltprodukte hier liefert, so müssen wir die Matrix der Spaltung in dem Serumeiweiß selber suchen. Unseres Erachtens wird es auch bei dem anaphylaktischen Shock sehr wahrscheinlich, daß die Reaktion sich etwa folgendermaßen abspielt: Die Körperzellen erhalten als Folge der Sensitivation die Eigenschaft, auf eine spezifische Injektion sofort mit der

Ausscheidung einer nichtspezifischen Protease und Lipase zu reagieren. Zu gleicher Zeit finden im Serum, als Folge der gewöhnlichen Immunitätsreaktionen, kolloide Veränderungen statt, wodurch die Dispersität der Serumlipoide eine gröbere wird und zur Verminderung ihrer Antifermenttätigkeit führt. Diese zwei Faktoren begünstigen proteolytische Vorgänge, und die Eiweißkörper, welche sich am leichtesten spalten lassen, sind diejenigen des Serums (besonders die Globuline) und die schon vorhandenen höheren Spaltprodukte, die Albumosen. Deswegen folgt sofort eine Zerlegung dieser Körper durch die Peptone bis zu den Aminosäuren. Die anaphylaktische Reaktion wird daher nicht nur von cellulären Erscheinungen, sondern auch von weitgehenden Serumveränderungen begleitet.

Nach Abschluß unserer Arbeit kamen uns die interessanten Mitteilungen Pfeiffers zur Kenntnis, worin er vermittels Glyzyltryptophans die enorme Verstärkung des peptolytischen Ferments während der verschiedenen Eiweißzerfalltoxikosen feststellt. Obwohl wir die Fermentwirkung, die wir konstatierten, als eine echt proteolytische bezeichnen können, ist doch die Identität der beobachteten Fermente sehr wahrscheinlich. Pfeiffer meint aber, daß diese Fermente unmittelbar den abgestorbenen Zellen entstammen, worin wir uns noch nicht völlig anschließen möchten. Statt die Fermentvermehrung als das Endresultat der Vergiftung zu betrachten, ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Vergiftung eine Begleiterscheinung der Fermentvermehrung ist. Pfeiffers Verbrühungsexperimente deuten unmittelbar auf die erste Annahme; dagegen lassen sich aber die Experimente mit isolierten anaphylaktischen Gewebszellen andersartig deuten.

Nimmt man den Meerschweinchenuterus nach Vorbehandlung mit verschiedenen Eiweißarten und läßt ihn mit einem der Antigene in vitro reagieren, so setzt sofort die bekannte Kontraktion ein, also zur Zeit, wo in vivo eine Fermentausscheidung stattfindet. Doch ist der Muskel an und für sich unbeschädigt und reagiert noch schön auf ein zweites und drittes Antigen. Von einer eigentlichen Vergiftung oder einem Absterben ist hier nicht zu reden. In vivo aber sind diese Zellen von dem Serum umspült, welches, als Folge der

Fermentmobilisation, giftige Spaltprodukte enthält und so eine Vergiftung der Körperzellen herbeiführt.

So vermuten wir auch, daß die Wirkung der vermeintlichen Abwehrfermente nur als eine Begleiterscheinung der gewöhnlichen Immunitätsreaktionen zu betrachten ist, da die Reaktion zwischen Antigen und Antikörper zu Kolloidverschiebungen führt, wobei auch das Antiferment durch Dispersitätsveränderungen und Adsorption vermindert wird, den nichtspezifischen, schon vorhandenen Proteasen Gelegenheit gebend, die Serumeiweißkörper anzugreifen.

Vergiftung durch Spaltprodukte.

Um festzustellen, inwiefern die verschiedenen Eiweißspaltprodukte die Serumfermente ändern könnten, untersuchten wir etliche Präparate.

Hund No. 71, Gewicht 6,6 kg. 0,5 g Albumosen (primary proteoses), aus Wittepepton zubereitet, um 9 Uhr intravenös eingespritzt.

Das Antiferment zeigte eine sofortige Erhöhung, nahm aber später wieder ab. Die Protease nahm etwas zu, die Lipase zeigte dagegen eine bedeutende Zunahme. Serumalbumosen, sowie Aminostickstoff nahmen ab. Der Hund wurde am nächsten Morgen tot gefunden.

Hund No. 73, Gewicht 6 kg. 0,5 g Deuteroalbumosen (secondary proteoses), aus Wittepepton zubereitet, 10^{50} intravenös eingespritzt.

Der Hund zeigte wenig Symptome und war am nächsten Morgen ganz gesund. Das Antiferment zeigte etwas Zunahme, ebenso die Protease. Die Lipase zeigte keine Erhöhung. Aminosäuren blieben unverändert, während die Serumalbumose am Nachmittag zunahm, aber am nächsten Morgen normale Werte zeigte.

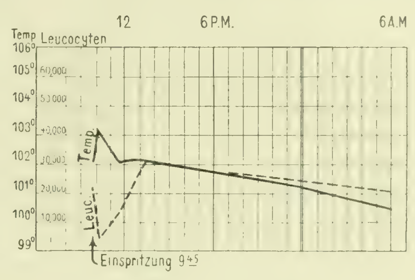
Hund No. 43, Gewicht 7 kg. 0,17 g Pepton (aus Hundemuskel mit der üblichen Methode zubereitet) 11^{30} intravenös eingespritzt.

Der Hund zeigte sofort schwere Erkrankung, am Nachmittag trat eine Parese der Hinterbeine dazu, und der Hund starb um 5 Uhr. Auch in diesem Experimente nahmen Serumprotease und Antiferment zu, während die Lipase nur wenig Veränderung zeigte. Aminosäuren blieben unverändert, während die Albumosen am Nachmittag zunahmen.

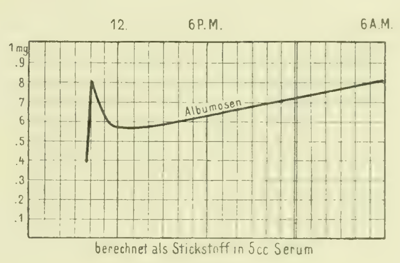
Im allgemeinen kann man sagen, daß das Antiferment durch alle Spaltprodukte erhöht wurde, die Protease zeigte mehr oder weniger Zunahme, je nach der Intensität der Vergiftung, die Lipase wurde dagegen weniger beeinflußt. Die Peptonlösung zeigte eine markante Giftigkeit, welche sich auch nach intestinaler Einspritzung entwickelte. Dagegen blieb Einverleibung durch Magen oder Rectum ohne Effekt.

Kaolinvergiftung.

Da wir in einer vorhergehenden Mitteilung gezeigt haben, daß Kaolin, wie manch andere adsorbierende Substanzen, imstande ist, das Serumantiferment zu adsorbieren und dadurch eine begrenzte Zone zu bilden, in der die Protease das Serumeiweiß (besonders das Globulin) spalten und dadurch eine Gifterzeugung verursachen kann, schien es uns von Interesse, festzustellen, wie der Organismus auf die intravenöse Einspritzung von Kaolin reagieren würde.



Kurve 5a.



Kurve 5b.

Hund No. 66, Gewicht 6 kg. 0,5 g Kaolin 9^{45} morgens intravenös in Salzlösung eingespritzt. (Kurve 5a—b.)

Der Hund wurde sofort krank, hatte verschiedentlich Brechanfälle, sowie Tenesmus und blutigen Stuhl. Am folgenden Morgen hatte er sich erholt.

Die Protease- und Lipaseerhöhung war nur gering, dagegen zeigte sich eine bedeutende Zunahme der Serumalbumosen.

Die folgenden Hunde erhielten Injektionen, welche fast augenblicklich von schwerem Shock und Tod gefolgt wurden. Die Symptome waren in jedem Fall gleich:

Hund No. 67,	Gewicht 5 kg.	1 g	Kaolin in Salzlösung.	Tot n. 10 Min.
„ „ 65,	„ 6,2 „	0,8 „	„ „ „	„ „ 20 „
„ „ 68,	„ 6,2 „	0,6 „	„ „ „	„ „ 5 „
„ „ 69,	„ 6 „	0,4 „	„ „ „	„ „ 15 „

Die Serumuntersuchung vor der Einspritzung und zur Zeit des Todes ergab folgende Resultate:

Tabelle II.

Hund No.		Gesamter nichtausfällbarer Stickstoff in 1 ccm Serum	Protease pro 1 ccm	Albumosen in 5 ccm Serum	Aminosäuren pro 1 ccm (direkt)	Lipase pro 1 ccm	Antiferment-titer
67	Vor der Injektion	0,28 mg	0,22 mg	0,5 mg	0,32 mg	0,5 ccm $N/_{100}$ NaOH	17 % pro 0,1 ccm
	Nach der Injektion	0,32 „	0,3 „	0,74 „	0,3 „	0,2 „ „ „	50 „ „ 0,1 „
65	Vor der Injektion	0,28 mg	0,04 mg	0,45 mg	0,41 mg	2,2 ccm $N/_{100}$ NaOH	33 % pro 0.2 ccm
	Nach der Injektion	0,28 „	0,37 „	0,41 „	0,42 „	2,2 „ „ „	75 „ „ 0,2 „
69	Vor der Injektion	0,31 mg	0,37 mg	0,55 mg	—	—	—
	Nach der Injektion	0,32 „	0,68 „	0,83 „	—	—	—

Wie zu ersehen, erfolgte eine Zunahme der Serumprotease, während die Lipase unverändert blieb. Abgesehen von Hund No. 65, nahmen die Albumosen bedeutend zu, aber die Aminosäuren zeigten keine entsprechende Veränderung.

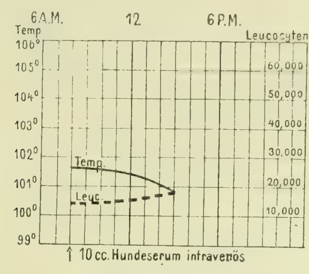
Da Friedberger und Tsuneoka schon gezeigt haben, daß die Giftwirkung des Kaolins durch Vorbehandlung mit Serum beseitigt wird, es sich demnach nicht um eine mechanische Schädigung handelt, sondern um Abdsorptionserscheinungen, scheinen diese Experimente in derselben Richtung zu deuten zu sein. Doch glauben wir, daß die Adsorption weniger Beziehung zu den Blutkörperchen hat, als man nach der Arbeit Friedbergers annehmen würde.

Einspritzung von Serum.

Bekanntlich hat man in den letzten Jahren, besonders bei der Behandlung von verschiedenen Hautkrankheiten, zu einer Autoserotherapie gegriffen, mit mehr oder weniger Erfolg. Das körpereigene Serum muß gewissermaßen als ein fremdes Reagens ohne immunisatorische Eigenschaft betrachtet werden. Eine eventuelle Erklärung der therapeutischen Beeinflussung durch Serumeinspritzungen könnte man wohl in

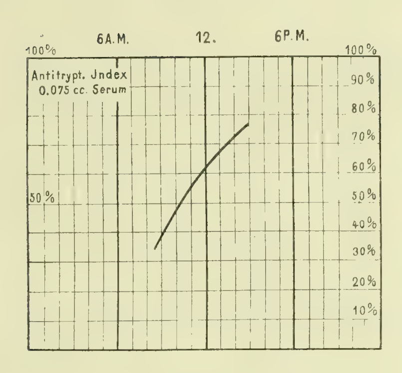
den Kolloid- oder Fermentveränderungen des Serums vermuten. Wir machten dementsprechend etliche Experimente.

Hund No. 51, Gewicht 5 kg. 10 ccm Hundeserum 8^{30} morgens eingespritzt. (Kurve 6a—c.)

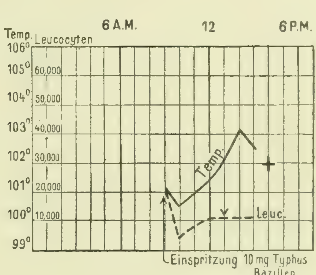


Kurve 6a.

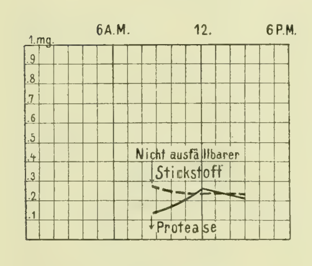
Die Serumfermente zeigten nur wenig Veränderung, das Antiferment nahm aber beträchtlich zu. Die Protease stieg etwas am Nachmittag, dagegen zeigten aber verschiedene andere Hunde eine Herabsetzung des proteolytischen Vermögens des Serums.



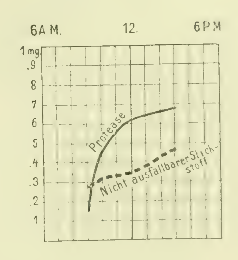
Kurve 6b.



Kurve 7a.



Kurve 6c.



Kurve 7b.

Der Effekt von Bakterienkörpern.

Bei dem Studium der Serumveränderungen, welche auf die Injektion verschiedener Substanzen folgen, schien es uns

natürlich von Interesse, die Folgen der Bakterienvergiftung zu untersuchen. Da wir mit konstanten Mengen arbeiten und auch die Weiterentwicklung im Körper vermeiden wollten, machten wir Gebrauch von getrockneten Organismen, welche, auf Agar gewachsen, etliche Male gewaschen waren. Wir verwandten Typhus-, Subtilis-, Diphtherie- und Tuberkelbacillen, sowie Staphylo- und Pneumokokken. Ein Experiment mit Typhusbacillen ist beispielsweise angegeben:

Hund No. 76, Gewicht 5,4 kg. 10 mg Typhusbacillen 9 Uhr morgens intravenös eingespritzt. Das Tier starb um 4 Uhr nachmittags. (Kurve 7a—b, s. p. 471.)

Die Fermentveränderungen sind typisch.

Um die Giftentstehung aus Typhusbacillen nach der Spaltungstheorie zu erklären, muß man annehmen, daß die Bacillen sehr bald zerlegt werden, oder daß durch einfache Bakteriolyse, nicht im Sinne der Proteolyse, schon vorhandene Spaltprodukte frei werden, also zur Endotoxintheorie zurückkommen. Würde die Gifterzeugung allein von der Proteolyse herrühren, so sollten Subtilisbacillen, welche weniger Antiferment enthalten und daher noch leichter zerlegt werden als Typhusbacillen, ebenso giftig sein, was aber nicht zutrifft. Die Widerstandskraft gegen Trypsin hat aber gewissermaßen eine Bedeutung, wie unsere Experimente zeigten, da die Injektion von 100 mg Tuberkelbacillen, obwohl sie zu einer Temperatursteigerung und Leukocytose führte, keinen Einfluß auf die Serumfermente ausübte; auch Diphtheriebacillen, welche annähernd ebenso widerstandsfähig sind, zeigten einen Unterschied von den Typhusbacillen, indem der Lipasetiter erst am folgenden Tage seinen Höhepunkt erreichte. Bei diesen Einspritzungen ist die Mitwirkung einer spezifischen Protease natürlich ausgeschlossen, da die Serumveränderungen sofort nach der Einspritzung erfolgten. Wir glauben, daß die Proteolyse, insofern sie bei der Zerlegung von Bakterien und der eventuellen Gifterzeugung betont worden ist, nicht als einziges Agens des Mechanismus betrachtet werden sollte, eher daß gewisse Organismen schon vorhandene giftige Spaltprodukte enthalten, welche während der Bakteriolyse frei werden, ein Mechanismus, an welchem die proteolytischen Fermente noch keinen sicher bewiesenen Anteil haben.

Experimentelle Pancreatitis.

Die akute Pancreatitis bildet schon lange ein Objekt des Interesses vieler Forscher und bietet ohne Zweifel ein gutes Beispiel einer Vergiftung durch Eiweißspaltprodukte. Es ist aber nicht ganz klar, ob auch eine eigentliche Fermentvergiftung durch aktives Trypsin mit zugrunde liegt.

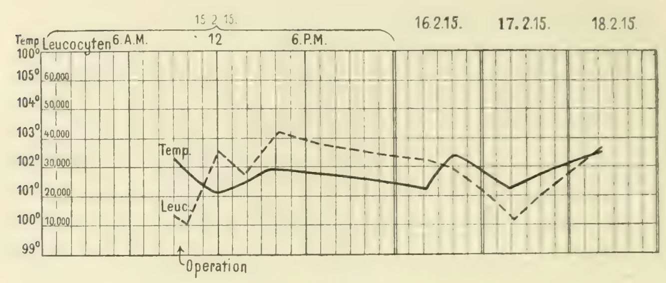
Das Verhalten der Serumlipase ist schon verschiedentlich untersucht worden, unter anderen von Whipple, Hanriot, v. Heß usw., doch hat es sich gezeigt, daß eine konstante Lipaseerhöhung nicht stattfindet. Wir gebrauchten verschiedentlich Natrium-Oleat, Natrium-Taurocholat und aktives Trypsin zur Einspritzung. Zur Orientierung wird folgendes Experiment angegeben:

Hund No. 14, Gewicht 9 kg. 1 g Natrium-Taurocholat 9^{45} morgens in den pankreatischen Kanal eingespritzt und der Kanal unterbunden. Operation um 10 Uhr vollendet, der Hund in gutem Zustande. Der Tod erfolgte am 4. Tage nach der Operation; die Sektion zeigte weitgehende Veränderungen und typische Nekrose des Gewebes. Bakteriologische Untersuchung negativ. Die Serumveränderungen sind in Kurve 8a—d (s. p. 474) wiedergegeben.

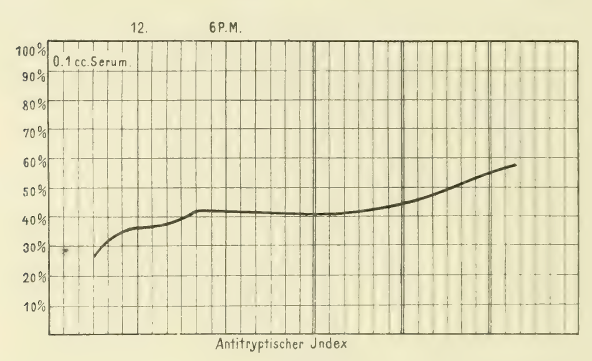
Verschiedentlich zeigten unsere Hunde größere Schwankungen des Antifermenttiters, entweder einen plötzlichen Anstieg oder auch etwas später eine Verminderung; die Schwankungen hatten aber kein Verhältnis zu der Proteasestärke des Serums. Der Durchschnittswert der Albumosen und Aminosäuren in verschiedenen Experimenten ist in folgender Tabelle gebracht:

	Vor der Operation	Nach 1 Std.	Nach 3 Std.	Nach 6 Std.	Nach 24 Std.	Nach 48 Std.	Nach 72 Std.
Albumosen in 5 ccm Serum als mg Stickstoff berechnet	0,38 mg	0,30 mg	0,46 mg	0,51 mg	0,77 mg	0,83 mg	0,5 mg
Aminostickstoff in 1 ccm Serum (Van Slyke direkt)	0,57 mg	0,51 mg	0,53 mg	0,51 mg	0,54 mg	0,51 mg	0,44 mg

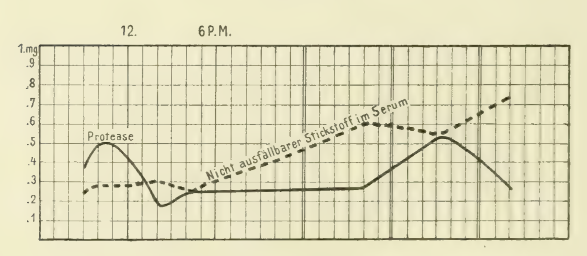
Im allgemeinen kann man sagen, daß die Serumprotease recht unregelmäßig nach der Entzündung des Pankreasgewebes auftritt. Von dem Bilde einer echten Trypsinvergiftung weicht



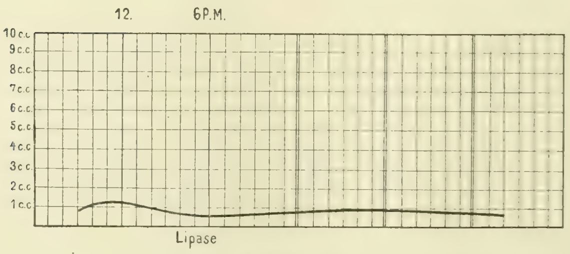
Kurve 8a.



Kurve 8b.



Kurve 8c.



Kurve 8d.

die Veränderung recht ab; sie zeigt viel mehr Aehnlichkeit mit den Vergiftungserscheinungen nach den höheren Spaltprodukten. Der nichtausfällbare Stickstoff im Serum nimmt gewöhnlich zu, besonders in den tödlich verlaufenden Fällen, eine Zunahme, die nur zum Teil durch Harnstoff gedeckt wird. Wir fanden, daß die Seifeneinspritzung, trotzdem die Gewebszerstörung sehr bedeutend war, nur selten akut tödlich verlief. Es ist sehr wahrscheinlich, daß die ungesättigten Seifen, indem sie stark antitryptisch wirken, eine zu gewaltige und schnelle Gifterzeugung verhindern.

Die Serumveränderungen während der Lungenentzündung.

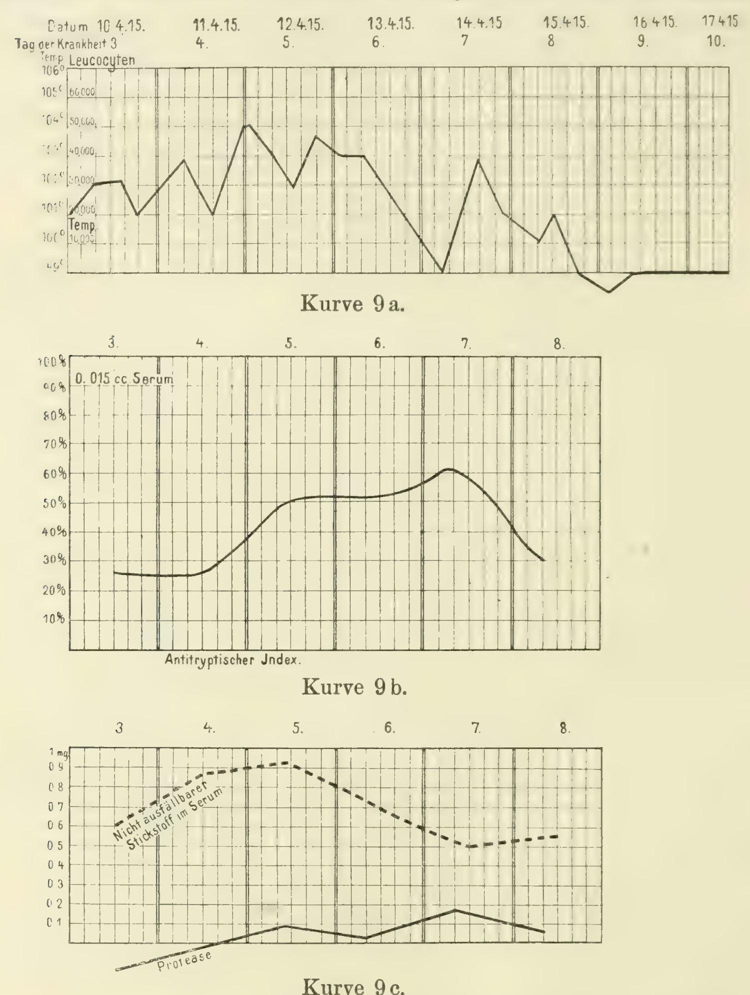
Unsere Kenntnis über die Reaktionen, welche bei der Lungenentzündung zur plötzlichen Entfieberung und Genesung führen, ist immer noch, trotz eifriger Forschung, unvollständig. Daß dabei die Serumantikörper und Leukocytose anregenden Substanzen nicht die maßgebende Rolle spielen, ist schon mehrfach bewiesen, indem diese Körper keine großen Veränderungen während oder kurz nach der Krise zeigen. Der plötzliche Umschwung ist aber nicht nur mit der Vernichtung der pathogenen Organismen, sondern auch mit der Lösung und Beseitigung der großen Fibrinmengen und Leukocytentrümmer verbunden. Man muß annehmen, daß ein autolytischer Vorgang von eigenartiger Bedeutung vorliegt; potentiell wenigstens wirkt das riesige Exsudat pyrogen, da von der Masse fortwährend eine Absorption der höheren giftigen Spaltprodukte stattfindet, je nach dem Stadium des autolytischen Prozesses. Die Faktoren, welche den autolytischen Vorgang fördern oder hindern, sollten daher an erster Stelle ein Objekt für die Forschung bilden.

Es standen uns zur klinischen Verfügung eine Anzahl Fälle, an welchen wir genaue Titrierung der Serumfermente vornehmen konnten, und von denen wir es uns erlauben, die folgenden zwei Fälle näher zu besprechen.

Fall 11 (Kurve 9a—c). Kräftiger Neger, 28 Jahre alt. Wurde am 3. Tage nach Anfang der Symptome (Schüttelfrost. Fieber, Husten, Brustschmerzen) ins Hospital aufgenommen. Entzündung des rechten Unterlappens; Pneumokokken Typus I (Neufeld) vom Sputum isoliert; klinischer Verlauf ohne besondere Behandlung recht günstig. Am 7. Tage der

Krankheit war die Temperatur fast normal, stieg aber wieder am nächsten Tage, um darauf am folgenden Tage wieder zu fallen.

Die Serumuntersuchung zeigte eine Anhäufung von Reststickstoff während der ersten 3 Tage, zur Zeit, wo keine



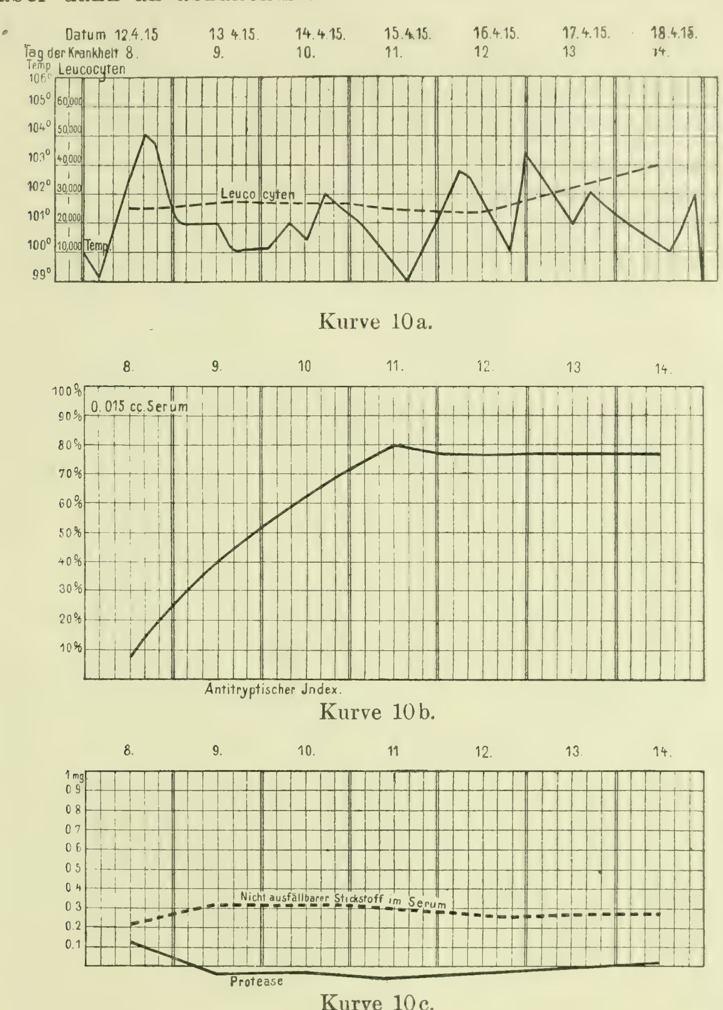
Kurve 9a.

Kurve 9b.

Kurve 9c.

Protease im Serum nachzuweisen war und es im Gegenteil in dem Chloroformröhrchen zur Abnahme des nichtausfällbaren Stickstoffes kam. Am 5. Tage der Krankheit erreichte die Protease aber schon 0,08 mg und blieb nun fortwährend anwesend bis zum Tage der völligen Entfieberung, an dem eine

Proteasewirkung von 0,18 mg erreicht wurde und der nichtausfällbare Stickstoff ganz bedeutend gesunken war. Das Antiferment blieb bis vor der Entfieberung recht hoch, fing aber dann an abzunehmen.



Kurve 10a.

Kurve 10b.

Kurve 10c.

Fall 12 (Kurve 10a—c). Junger Neger, 19 Jahre alt. Wurde am 8. Tage nach Anfang der Krankheit ins Hospital aufgenommen. Ober- und Unterlappen der rechten Lunge angegriffen. Pneumokokken Typus II (Neufeld). Nach 2 Tagen Anfang von Bewußtlosigkeit, welche anhielt. Patient recht toxisch. Exitus am 14. Tage der Krankheit.

Der Reststickstoff war hier nicht vermehrt; das Serum zeigte aber kein proteolytisches Vermögen außer am Tage der Aufnahme. Antiferment zeigte progressive Zunahme und behielt den hohen Titer bei.

Als Resultat unserer Untersuchung konnten wir die folgenden Beobachtungen feststellen: Die Entfieberung wird gewöhnlich von a) einer Verminderung des Antiferments, b) einer Mobilisation von nichtspezifischer Protease, c) einer geringen Zunahme an Serumlipase, d) einer Verminderung des Reststickstoffes und der Albumosen des Serums begleitet. Wir glauben, daß die Intoxikationserscheinungen nicht allein den Toxinen, welche ihren Ursprung in dem Pneumokokkeneiweiß haben, zuzuschreiben ist, sondern daß das Exsudat mit in Betracht gezogen werden muß, daß eine therapeutische Beeinflussung demgemäß nicht nur den Pneumokokken Rechnung zu tragen hat, sondern auch das Gleichgewicht zwischen Ferment und Antiferment so umstimmen muß, daß der autolytische Prozeß beschleunigt wird, um dadurch den Abbau des Exsudats so zu gestalten, daß nur noch atoxische Spaltprodukte resorbiert werden.

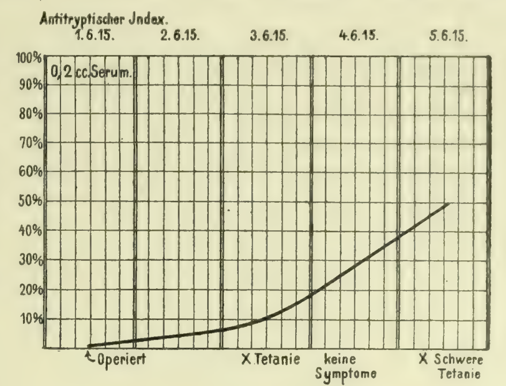
Die Serumveränderungen nach der Thyreo-Parathyreoidektomie.

Kling hat in seiner Arbeit über die elektrische Erregbarkeit der Nerven während des anaphylaktischen Zustandes einige Anhaltspunkte zwischen diesem Zustande und der Tetanie hervorgehoben; auch andere Arbeiten haben der Vermutung Ausdruck gegeben, daß die Tetanie nach der Parathyreoidektomie mit einer Eiweißvergiftung eng verbunden sei, da sie nach Fleischfütterung besonders stark zutage tritt. Wir haben demgemäß einige Experimente unternommen und das Serum nach der Exstirpation untersucht. Ein derartiges Experiment wird in der begleitenden Kurve 11a–c gezeigt.

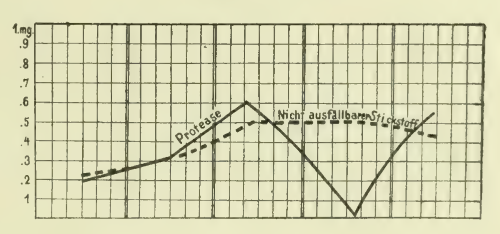
Hund No. 85. Der Thyreoid-Parathyreoid-Apparat wird am Morgen des 1. Juni entfernt. Erste Zeichen der Tetanie am Morgen des 3. Juni; Besserung am folgenden Tag; wiederum Tetanie am 5. Juni. Starb in der folgenden Nacht.

Wie zu ersehen, erfolgte eine Zunahme des Antiferments, des Reststickstoffes, der Albumosen und Protease schon am Tage nach der Operation; nur Lipase und Aminosäuren zeigten keine Erhöhung.

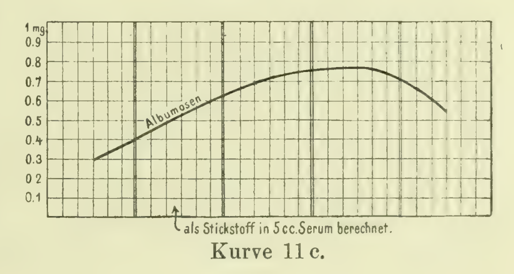
Etliche andere Experimente zeigten trotz ausgeprägter Tetanie keine Zunahme der Protease, auch geringe Veränderung der Albumosen. Solange wir noch nicht in völligem Besitz aller Tatsachen über Fermentmobilisation und deren Einfluß auf den Körper sind, möchten wir es uns nicht erlauben, irgendwelche Schlüsse auf den Einfluß der Drüsen der inneren Sekretion in dieser Richtung zu ziehen; auch ist die Möglichkeit, daß eventuelle Serumveränderungen sekundäre Erscheinungen sind, nicht ausgeschlossen.



Kurve 11 a.



Kurve 11 b.



Kurve 11 c.

Beobachtungen über Lipase.

Bekanntlich nimmt auch die Serumlipase nach der Vergiftung mit einigen Substanzen, welche zugleich das Lebergewebe besonders schädigen, so z. B. nach Chloroform- und Phosphorvergiftung, zu. Der üblichen Anschauung gemäß beruht die Zunahme des Titers auf dem Zerfall der Leber-

zellen mit darauf folgender Freisetzung der Zellfermente. Nachdem wir aber fanden, daß eine Erhöhung des Titers keine Seltenheit darstellt, sondern nach den verschiedensten Eiweißvergiftungen vorkommt und dazu sehr bald nach der vergiftenden Einspritzung zutage tritt, schien es uns von Interesse, den Titer an verschiedenen Blutproben festzustellen, welche nach einer Phosphorvergiftung Veränderungen zeigen könnten. Dabei hat es sich herausgestellt, daß das Blut, welches der Leber zuströmt, ganz unverkennbar höhere Werte des Lipasetiters ergab, als das Blut, welches von der Leber kam. Ein solches Experiment ergab folgende Bestimmungen.

Lipasetiter pro ccm Serum in $N/_{100}$ NaOH:

Arteriell	19,0 ccm
Vena porta	21,0 „
I. Vena cava	16,5 „
Vena hepatica	14,0 „

Man kann also den Anstieg des Lipasetiters nicht der Leberschädigung im besonderen zuschreiben, sondern muß unbedingt den Schluß ziehen, daß der erhöhte Gehalt wohl den Gewebszellen des Körpers im allgemeinen entstammt.

Zusammenfassung.

1) Eine Methode zur quantitativen Proteasebestimmung wird beschrieben.

2) Bei der Trypsinvergiftung wird eine starke Zunahme an Serumprotease und -lipase beobachtet; diese Fermente sind wahrscheinlich als mobilisierte Zellfermente zu betrachten. Die beobachtete Antifermentverminderung kann als Absättigung durch die Protease gedeutet werden, beruht aber wahrscheinlicher auf Dispersitätsveränderungen der ungesättigten Lipoide. Das inaktive Trypsin erwies sich noch giftig.

3) Bei dem akuten anaphylaktischen Shock beim Hunde wurden als erste Erscheinungen a) eine Protease- und Lipaseerhöhung, b) eine Antifermentverminderung, c) eine Albumosenverminderung, d) eine Zunahme von nichtausfällbarem Stickstoff und Aminosäuren beobachtet. Es wird die Möglichkeit besprochen, daß die giftigen Spaltprodukte, welche zur Intoxikation führen, dem Serumeiweiß entstammen. Pfeiffers Be-

obachtungen werden bestätigt, doch möchten wir die Proteasevermehrung nicht unbedingt auf das Absterben der Zellen beziehen. Es ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Fermentmobilisation eine Intoxikation zur Folge hat.

4) Die Serumveränderungen nach Vergiftung mit Spaltprodukten werden beschrieben.

5) Die Kaolinvergiftung beruht wahrscheinlich auf einem Antiferment-Adsorptionsphänomen, wobei es zur Serumeiweißspaltung kommt. Es wurde eine bedeutende Zunahme der Serumalbumosen festgestellt.

6) Die Autoserotherapie kann auf Ferment-Antifermentveränderungen beruhen. Eine Steigerung des Antiferments wurde in den Experimenten beobachtet. Die Protease zeigte dagegen gewöhnlich eine Abnahme des Titers.

7) Typhusbacillen und andere Mikroorganismen verursachen nach der intravenösen Einspritzung eine bedeutende Zunahme der Protease und Lipase. Die Giftigkeit der verschiedenen Organismen kann wohl nicht vollständig durch die intravitale Proteolyse und die Widerstandsfähigkeit der Organismen demgegenüber begründet sein, sondern beruht wenigstens zum Teil auf schon vorhandenen giftigen Spaltprodukten, welche nach der Auflösung freigemacht werden.

8) Es wird die Bedeutung der Ferment-Antiferment-Verschiebung während der Lungenentzündung besprochen.

9) Die Serumveränderungen nach der experimentellen Pancreatitis und Thyreo-Parathyreoidektomie werden beschrieben.

10) Die Erhöhung des Lipasetiters nach Chloroform- und Phosphorvergiftung beruht nicht auf Leberzellzerfall.

Wir möchten es nicht unterlassen, Herrn Joseph Lepak für seine Mithilfe bei diesen Arbeiten unseren Dank auszusprechen.

Literatur.

Die einschlägige Literatur ist in verschiedenen Arbeiten, welche im Journal of Experimental Medicine erschienen sind, vollständig berücksichtigt worden.

[Aus dem k. k. Veterinär-medizinischen Institute der Jagellonischen Universität in Krakau (Direktor: Prof. Dr. J. Nowak).]

Beiträge zur Kenntnis der Säureagglutination.

Von Dr. **M. Gieszczykiewicz,**
Assistenten am Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 5. August 1915.)

Im Mai 1911 hat Michaelis in einer vorläufigen Mitteilung (1) berichtet, daß im Laufe seiner Untersuchungen über die Löslichkeit der amphoteren Substanzen es ihm gelungen ist, eine neue Methode zur Differenzierung und Identifizierung der Bakterien auszuarbeiten. Sie besteht darin, daß durch Lösungen von bestimmten Wasserstoffionenkonzentrationen [H˙] verschiedene Bakterienstämme ausgeflockt werden, und zwar ist die [H˙], bei welcher die Säureagglutination in optimaler Weise stattfindet, für die Bakterienart charakteristisch.

Die ausführliche Bearbeitung der Säureagglutination in ihrer Anwendung zur Differenzierung von Bakterienstämmen ist von Beniasch (2) im Laboratorium von Michaelis ausgeführt worden. Er hat 198 Bakterienstämme untersucht mit dem Ergebnis, daß die Säureagglutination zur Differenzierung der Bakterien geeignet ist, namentlich im Bereich der Darmbakteriengruppe. Zahlreiche Nachprüfungen haben im großen und ganzen die Angaben von Michaelis und Beniasch bestätigt.

Die Bearbeitung der Frage habe ich schon im Jahre 1912 begonnen, leider mußte die Arbeit unterbrochen und konnte erst im Laufe des Jahres zu Ende gebracht werden.

Ich bediente mich der von Michaelis in seiner ersten Mitteilung (1) über Säureagglutination angegebenen Technik mit wenigen Modifikationen.

Die Lösungen von bestimmten Wasserstoffionenkonzentrationen wurden durch Vermischung von schwach dissoziierten, organischen Säuren mit ihren Natronsalzen hergestellt. Zur Anwendung kamen hauptsächlich die Essig- und die Milchsäure. Da wir in Uebereinstimmung mit Beniasch

und Michaelis, sowie mit mehreren anderen Autoren uns überzeugt hatten, daß die Agglutination nicht von der Säure selbst, sondern von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig ist, machten wir in jedem Experimente von beiden Säuren Gebrauch, und zwar wurden Lösungen von niedrigeren Wasserstoffionenkonzentrationen ($[H^{\cdot}] = 0{,}9 \cdot 10^{-5}$ und $2{,}8 \cdot 10^{-4}$) mit Essigsäure-Acetat, die höheren ($[H^{\cdot}] = 5{,}5 \cdot 10^{-4}$ und $4{,}4 \cdot 10^{-3}$) mittels Milchsäure-milchsaures Natron-Gemischen hergestellt.

Zu den meisten Versuchen genügten uns folgende Gemische:

Natronlauge $^1/_1$-n.	Essigsäure $^1/_1$-n.	Destilliertes Wasser	Essigsäure / Acetat	$[H^{\cdot}]$
1	1,5	17,5	1:2	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$
1	2	17	1:1	$1{,}8 \cdot 10^{-}$
1	3	16	2:1	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$
1	5	14	4:1	$0{,}7 \cdot 10^{-4}$
1	9	10	8:1	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$
1	17	2	16:1	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$
	Milchsäure $^1/_1$-n.		Milchsäure / milchsaur. Natr.	
1	5	14	4:1	$5{,}5 \cdot 10^{-4}$
1	9	10	8:1	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$
1	17	2	16:1	$2{,}2 \cdot 10^{-3}$
1	33	6	32:1	$4{,}4 \cdot 10^{-3}$

Zur Herstellung von Lösungen mit noch niedrigeren Wasserstoffionenkonzentrationen bedienten wir uns der Phosphatgemische genau nach den Angaben von Michaelis und Skwirsky (3). Es wurden zwei Stammlösungen bereitet:

1) eine Lösung von 27,4 g $NaH_2PO_4 + 4\,H_2O$ in 1 l Wasser (einbasisches Natriumphosphat Kahlbaum),
2) eine Lösung von 51,4 g $Na_2HPO_4 + 12\,H_2P$ in 1 l Wasser (große, nicht verwitterte Kristalle von Natriumphosphat pro analysi Kahlbaum).

Durch passende Vermischung dieser zwei Lösungen, von denen die erste sauer, die zweite alkalisch reagiert, erzielt man eine Wasserstoffionenkonzentration zwischen $3{,}8 \cdot 10^{-6}$ und $0{,}15 \cdot 10^{-7}$, welche teils schwach sauer, teils neutral, teils schwach alkalisch reagieren. Wir wendeten folgende Gemische an:

NaH_2PO_4-Lösung / Na_2HPO_4-Lösung	$[H^{\cdot}]$	Reaktion
1:8	$0{,}3 \cdot 10^{-7}$	alkalisch
1:4	$0{,}6 \cdot 10^{-7}$	,,
1:2	$1{,}2 \cdot 10^{-7}$	,,
1:1	$2{,}4 \cdot 10^{-7}$	sauer
2:1	$4{,}8 \cdot 10^{-7}$	,,
4:1	$9{,}6 \cdot 10^{-7}$	,,
8:1	$1{,}9 \cdot 10^{-6}$	,,

Die Gemische wurden im Eisschrank ohne jeglichen Zusatz kurze Zeit hindurch aufbewahrt und zu einer jeden Serie frisch hergestellt.

Zur Kontrolle der agglutinierenden Wirkung der Gemische wurde jede Versuchsreihe mit einer Säureagglutination eines und desselben Typhusstammes eingeleitet. Die Ergebnisse waren fast stets dieselben.

Die Bakterienaufschwemmung wurde derartig hergestellt, daß der Belag eines 24—48-stündigen, gut gewachsenen Schrägagarröhrchens vorsichtig ohne Verletzung des Nährbodens mit der Platinöse abgestrichen und in destilliertem Wasser aufgeschwemmt wurde. Die Dichtigkeit suchte man so zu gestalten, daß sie nach der Verdünnung mit der Säurelösung etwa der für die Widalsche Reaktion brauchbaren Emulsion gleich war.

Der Gang der Untersuchung gestaltete sich folgendermaßen:

Eine Reihe von 10 Röhrchen wurde mit je 0,5 ccm der entsprechenden Säurelösung und mit ebensoviel Bakterienaufschwemmung beschickt. Die Röhrchen wurden dann im Brutschranke so lange aufbewahrt, bis die Agglutination deutlich sichtbar wurde. Diese Zeit war für die meisten der von uns angewendeten Stämme ziemlich kurz und dauerte etwa eine Viertelstunde. Vereinzelte Stämme zeigten aber keine Spur von Agglutination trotz einer mehrstündigen Aufbewahrung im Brutschrank. Sobald die Ausflockung sichtbar wurde, wurden die Röhrchen aus dem Brutschrank herausgenommen und bei Zimmertemperatur mehrere Stunden lang aufbewahrt. Als Optimum gilt das Röhrchen, in welchem die Agglutination zuerst auftritt. Das Optimum ist auch nach längerer Zeit dadurch zu erkennen, daß bei optimaler [H·] die agglutinierten Bakterien nach Aufschütteln des Röhrchens am schnellsten in Flocken zu Boden fallen. Diese beiden Merkmale der optimalen [H·] stimmen meistens miteinander überein. Es geschieht aber mitunter, daß z. B. die ersten Spuren der Ausflockung bei $0{,}7 \cdot 10^{-4}$ auftreten und daß aber trotzdem nach Abschluß des Versuches die größten und am schnellsten zu Boden sinkenden Flocken im benachbarten Röhrchen vorhanden sind. In diesen Fällen wurde diejenige [H·] als optimale bezeichnet, bei welcher die Klärung am stärksten war und die Flocken am schnellsten zu Boden fielen.

I.

Unsere ersten Versuche betrafen die Typhus- und Paratyphusbacillen. Die Ergebnisse soll die nebenstehende Tabelle veranschaulichen.

Nach Michaelis und Beniasch soll das Agglutinationsoptimum bei Typhusbacillen auf $[H^\cdot] = 4 \cdot 10^{-5}$ entfallen, bei Paratyphusbacillen zwischen $1{,}4 \cdot 10^{-4}$ und $2{,}8 \cdot 10^{-4}$ schwanken. Was unsere Typhusstämme anbelangt, so fanden wir das Agglutinationsoptimum ein wenig nach rechts, d. h. nach der Seite der höheren [H·] verschoben im Vergleiche zu den Angaben

Tabelle I.

Stämme	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$0{,}7 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$	$5{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	$2{,}2 \cdot 10^{-3}$	$4{,}4 \cdot 10^{-3}$
Typhusstamm										
Paris, alter Laborator.-Stamm	—	—	+	opt.	+	+	±	—	—	—
Besredka, „ „	—	—	+	„	+	—	—	—	—	—
Bujak, „ „	—	—	+	„	+	+	+	+	±	±
Baczek, aus Kot frisch isoliert	—	—	opt.	+	+	±	—	—	—	—
Kwolik, „ „ „ „	—	—	+	opt.	+	+	+	±	—	—
M_1 „ „ „ „	—	—	+	„	+	±	—	—	—	—
M_2 „ „ „ „	—	—	+	„	+	±	—	—	—	—
M_3 „ „ „ „	—	—	+	„	±	—	—	—	—	—
Obstfeld, „ „ „ „	—	—	+	„	+	+	+	—	—	—
Pyrgel, aus Blut frisch isoliert	—	—	—	„	+	±	—	—	—	—
Silberberg, aus Blut frisch isoliert	—	—	+	„	+	+	+	+	+	—
C. F., aus Gallenblase frisch isoliert	—	—	+	„	+	±	—	—	—	—
Paratyphus (Laborator.-Stämme)										
Paratyphus A	—	—	—	—	±	+	—	—	—	—
„ „ Abel	—	—	+	opt.	+	+	+	+	+	+
„ „ Brion	—	—	—	„	+	+	+	+	+	±
„ B	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—
Schottmüller I	—	—	—	—	±	+	+	opt.	+	—

von Michaelis. Unsere Befunde stimmen mit denen von Stepanoff-Grigorjeff (4) überein, welcher das Optimum für Typhusbacillen meistens bei $[H^{\cdot}] = 8 \cdot 10^{-5}$ gefunden hatte. Ein Ausfall, resp. eine Verminderung der Agglutination bei der $[H^{\cdot}] = 5{,}5 \cdot 10^{-4}$ und $2{,}8 \cdot 10^{-4}$, wie es Arkwright (12) beobachtet hatte, konnte nicht konstatiert werden. Dagegen reichte öfters die Agglutination viel weiter nach rechts, als es Michaelis und Beniasch angeben, und zwar bis über 10^{-3}.

Unsere Beobachtungen über Paratyphusbacillen beziehen sich auf zu wenig Stämme, um irgendwelche Schlüsse zu erlauben. Uebrigens scheint Paratyphus A sein Agglutinationsoptimum ziemlich nahe vom Typhus zu haben.

Bacterium coli comm. wurde sowohl von Michaelis und Beniasch als von mehreren anderen Autoren (Beintker, 5; Rost, 6) durch Säure nicht ausflockbar gefunden; es schloß sich daran die Hoffnung an, in der Säureagglutination ein wichtiges und sicheres Differenzierungsmittel zwischen Coli- und Typhus- resp. Paratyphusbacillen zu besitzen.

Wir können uns dieser Ansicht nicht anschließen. Die Zahl der von Beniasch untersuchten Stämme war nicht sehr hoch (10), es fehlen auch Angaben über die Provenienz der Stämme. Erst Sgalitzer (7) hat eine größere Zahl (20) Colistämme untersucht und bloß die Hälfte säureempfindlich gefunden. Die meisten agglutinablen Stämme hatten ihr Agglutinationsoptimum bei $[H^{\cdot}] = 1{,}4 \cdot 10^{-4}$, sie sind also von Paratyphusbacillen in dieser Hinsicht nicht zu unterscheiden. Auch Jaffé (8) hat mehrere Colistämme agglutinabel gefunden. Wir haben über 30 Colistämme mittels der Michaelisschen Säureagglutination untersucht. Es waren darunter alte Laboratoriumsstämme, frisch isolierte Saprophyten aus dem menschlichen Darm sowohl von Gesunden als von Appendicitiskranken (auch mehrere Typhusrekonvaleszenten) und pathogene Erreger von Peritonitis, Cystitis und Pyelonephritis. Alle Stämme wurden mittels des Endoschen Nährbodens isoliert, sie spalteten alle sowohl Trauben- als Milchzucker, sie koagulierten die Milch und gaben eine positive Indolreaktion. (Siehe die nebenstehende Tabelle II.)

Ein Drittel der untersuchten Colistämme wurde also agglutinabel gefunden, und zwar unabhängig davon, ob sie frisch isoliert oder länger gezüchtet wurden, ob sie bei gesunden oder kranken Menschen vorkamen. Nur die aus Harn bei Cystitis oder Pyelonephritis isolierten Stämme agglutinieren relativ häufiger als andere. Das Agglutinationsoptimum entspricht dem der Paratyphus- und Enteritisbacillen. Im allgemeinen gehen einzelne Stämme in dieser Hinsicht weit auseinander. Es gibt solche, und dies ist wohl die Mehrzahl, welche vollkommen inagglutinabel sind, andere haben ihr Optimum bei $1{,}4 \cdot 10^{-4}$ bis $2{,}8 \cdot 10^{-4}$, andere wieder agglutinieren erst bei den höchsten in Anwendung kommenden $[H^{\cdot}]$, etwa bei $1{,}1 \cdot 10^{-3}$ bis $4{,}4 \cdot 10^{-3}$.

Im Anschluß an die Untersuchungen der Coligruppe wurden mehrere Versuche mit den Kapselbacillen angestellt. Mit dieser Gruppe haben sich die anderen Forscher wenig beschäftigt. Beniasch untersuchte nur 4 Friedländerstämme und hat sie fast alle nicht ausflockbar gefunden. Dies war a priori vorauszusehen, denn die Kapselbakterien sind auch den Immunsera gegenüber resistent, und es besteht nach den

Tabelle II.

Stämme	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$0{,}7 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$	$5{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	$2{,}2 \cdot 10^{-3}$	$4{,}4 \cdot 10^{-3}$
Alte Laboratoriumsstämme:										
Coli I	—	—	—	+	opt.	+	+	—	—	—
„ II	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ III	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ G.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Tunis	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
„ A. P.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aus Stuhl v. Gesunden, Typhusverdächtigen und Typhusrekonvaleszenten frisch isolierte Stämme:										
Coli Sokołowski	±	±	+	+	opt.	+	±	—	—	—
„ Rakowski	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Krzyski	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Osuchowski	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Koztowski	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
„ Holender	—	—	—	—	—	—	—	opt.	+	+
„ Władysławski	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Warczewski	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Czerwonka	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Odrzywolski	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Dyz	—	—	—	—	+	opt.	+	+	+	+
„ Obstfeld	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aus dem Inhalt einer wegen akuter oder chronischer Entzündung operiert. Appendix:										
Coli Josef	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+
„ Karm	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
„ Pulka	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Jaworski	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Uramowska	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Pelczarski	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aus Eiter bei Appendicitis supp.:										
Coli Wiesenfeld	—	—	+	opt	+	±	±	±	—	—
„ Kasprzycki	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aus Harn bei Cystitis resp. Pyelonephritis:										
Coli 459	—	—	—	—	±	±	±	opt.	+	+
„ N.	—	—	—	—	—	opt.	+	+	+	+
„ Sikora	—	—	+	+	+	++	++	++	++	++
„ R.	—	—	—	+	+	opt.	+	+	+	+
„ Weindl	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ Walas	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+

Angaben der Autoren ein gewisser Parallelismus zwischen der spezifischen und der Säureagglutination. Die Ursache

dieser Resistenz der genannten Bakteriengruppe sind wohl die Kapseln, welche die Bakterienleiber vor Einwirkung der spezifischen Antikörper schützen. Es gibt aber Methoden, die Bakterien ihrer Kapseln zu berauben und sie dadurch der Einwirkung der Immunkörper zugänglich zu machen. Eine solche Methode hat Beham (9) angegeben. Sie besteht darin, daß man die Kapselbacillen längere Zeit bei Zimmertemperatur fortzüchtet und öfters auf Agarplatten aussät. Unter den schleimigen Kolonien erscheinen mitunter kleine, trockene; von diesen impft man ab und wiederholt dies so lange, bis keine Kapseln mehr vorhanden sind. Mit Hilfe dieser Methode ist es Beham gelungen, mehrere kapsellose Stämme der Sklerom-, Ozaenabacillen u. dgl. zu züchten. Diese Kulturen mit den kapselhaltigen Stämmen, welche aus denselben Fällen gezüchtet wurden, sind uns durch die große Liebenswürdigkeit des Autors, welchem wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen, zur Verfügung gestellt worden. Wir haben sie alle auf Säureagglutination geprüft zusammen mit mehreren Stämmen anderer Provenienz. Die Ergebnisse gibt die nachstehende Tabelle an.

Tabelle III.

Stämme	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$0{,}7 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$	$5{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	$2{,}2 \cdot 10^{-4}$	$4{,}4 \cdot 10^{-4}$	Serum-agglutin.
Scleroma:											
I A, kapselhaltig	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—	—
I B, kapsellos	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
II A „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
II B „	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
III B „	—	—	+	++	++	++	opt.	++	+	+	+
Z, kapselhaltig	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Ozaena:											
I A, kapselhaltig	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.
II B, kapsellos	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.
Z, kapselhaltig	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.
Friedländer K	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	.
„ Z	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	.

Wir sehen somit, daß mit einer Ausnahme Scleroma III B die kapsellosen Stämme ebensowenig durch Säure ausflockbar waren wie die kapselhaltigen. In dieser Hinsicht scheint die Serumagglutination eine empfindlichere Methode zu sein.

II.

Eine Bakteriengruppe wurde mittels der Säureausflockungsmethode noch gar nicht untersucht. Es sind die Anaëroben. Ihnen schenkten wir eine besondere Aufmerksamkeit. Die Technik mußte hier etwas modifiziert werden, da die Anaëroben auf Schrägagarröhrchen schlecht wachsen und selbst bei Züchtung in reiner Wasserstoffatmosphäre keinen oberflächlichen, leicht abnehmbaren Belag bilden, sondern tief in den Nährboden hineindringen, so daß der Abstrich resp. die Abschwemmung derselben höchst erschwert wird. Deshalb sahen wir von Anwendung der Agarkulturen ab, wir stellten dagegen Bouillonkulturen an, welche dann zentrifugiert wurden, die Bouillon wurde abpipettiert, der Bodensatz im destillierten Wasser aufgeschwemmt und zur Reaktion verwendet. Es war notwendig, zu prüfen, ob die Bouillon als Nährboden keinen störenden Einfluß auf die Säureagglutination ausübt. Zu diesem Zwecke haben wir denselben Typhusstamm parallel auf Schrägagar und auf Bouillon gezüchtet und Aufschwemmungen in der üblichen bzw. in der genannten Weise bereitet. Die Säureagglutination ergab für beide Aufschwemmungen übereinstimmende Resultate. Leider mußten sich unsere Versuche auf wenige Stämme beschränken, es waren meistens alte Laboratoriumsstämme.

Tabelle IV.

	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$0{,}7 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$	$5{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	$2{,}2 \cdot 10^{-3}$	$4{,}4 \cdot 10^{-3}$
Oedema H.	—	—	—	+	++	opt.	+	±	—	—
Oedema W.	—	—	+	+	+	„	+	—	—	—
Oedema Kr.	—	±	+	+	+	„	+	+	+	+
Rauschbrand H.	—	+	+	+	+	„	++	+	+	+
Rauschbrand W.	—	+	+	+	+	„	++	+	—	—
Botulinus H.	—	—	—	+	+	„	+	+	—	—
Botulinus W.	—	—	—	+	+	„	+	+	—	—
Botulinus Kr.	—	—	+	+	+	„	+	+	+	+
Butyricus	—	—	±	+	+	+	+	opt.	+	+
Bradsot	—	+	+	+	opt.	+	—	—	—	—
Nekrosebacillus	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Tetanus H.	—	+	+	opt.	+	—	—	—	—	—
Tetanus Paris	±	+	+	„	+	—	—	—	—	—

Die Anaëroben sind meistens leicht mit Säure ausflockbar. Malignes Oedem, der Rauschbrandbacillus und der Bac. botulinus haben ihr Agglutinationsoptimum alle bei $2{,}8 \cdot 10^{-4}$ und differieren in dieser Hinsicht wenig voneinander. Der Tetanusbacillus hat sein Optimum mehr nach links verschoben, er agglutiniert nämlich optimal bei $[H^{\cdot}] = 0{,}7 \cdot 10^{-4}$. (Es ist das Agglutinationsoptimum für Typhusbacillen.) Die anderen untersuchten Anaërobenstämme gehen ziemlich weit in dieser Hinsicht auseinander.

III.

Eines der wichtigsten Probleme, welches bei Untersuchungen über die Säureagglutination zu erörtern ist, ist die Beziehung der Säureausflockung zur spezifischen Agglutination. Ich möchte hier nicht auf die physikalisch-chemische Beschaffenheit der beiden Prozesse eingehen und mich lediglich auf die objektiven Merkmale der beiden Erscheinungen beschränken. Es bestehen in dieser Beziehung sowohl Analogien wie Unterschiede. Gemeinsam ist für beide Prozesse die Ausflockung, welche wesentlich ganz ähnlich in beiden Fällen verläuft. Ferner besteht eine Analogie darin, daß gewisse Stämme, welche mit Serum schwer agglutinabel sind, sich auch der Säurewirkung gegenüber als resistent erweisen. Darauf wies schon Michaelis in seiner ersten Publikation über die Säureagglutination (1). Mehrere Autoren (Beniasch, 2; Sgalitzer, 7) haben dies bestätigt; es wurde meistens an Typhusbacillen gearbeitet. Auch wir haben diesen quantitativen Parallelismus zwischen Serum- und Säureagglutination an mehreren Typhusstämmen beobachtet; die Kapselbacillen, wie oben, verhielten sich in dieser Hinsicht anders.

Was nun die Unterschiede zwischen den beiden Phänomenen anbetrifft, so haben Beintker (5) und Heimann (10) darauf hingewiesen, daß der Zusammenhang der Bakterien bei der Säureagglutination ein viel lockerer ist, als bei der durch Serum bedingten. Nach unseren Untersuchungen ist es kein wesentliches Merkmal, es hängt vielmehr von der Versuchstechnik ab. Durch Achtung auf die Reinheit des verwendeten Wassers, durch längeres Verbleiben der Röhrchen im Brutschranke (mehrere Stunden) kann man die Ausflockung be-

deutend verstärken und sie der spezifischen Serumagglutination ähnlich machen.

Nach Beniasch (2) besteht der Hauptunterschied zwischen der Säure- und der Serumagglutination darin, daß die spezifisch agglutinierten Bakterien lebendig bleiben, dagegen die mit Säure behandelten ihr Leben dabei einbüßen. Dieser Umstand veranlaßte mich, Untersuchungen über die bakterizide Kraft der Michaelisschen Säurelösungen anzustellen. Insbesondere handelte es sich dabei darum, ob die bakterizide Wirkung der Säure in irgendwelchem Verhältnis zum Optimum der Säureagglutination stehe. Es wurden folgende Versuche angestellt.

Tabelle V.

	$0,9 \cdot 10^{-5}$	$1,8 \cdot 10^{-5}$	$3,6 \cdot 10^{-5}$	$0,7 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$2,8 \cdot 10^{-4}$	$5,5 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-3}$	$2,2 \cdot 10^{-3}$	$4,4 \cdot 10^{-3}$
Typhus Pyrgel in destilliertem Wasser										
Agglutination	—	—	+	opt.	+	+	+	±	—	—
Zahl der Kolonien in 1 ccm	∞	∞	Millionen	Tausende	0	0	.	.	.	.
Typhus Pyrgel in Kochsalzlösung										
Agglutination	—	—	±	±	±	—	—	—	—	—
Zahl der Kolonien in 1 ccm	∞	∞	Millionen	Tausende	0	0	.	.	.	.
Coli Wiesenfeld in destilliertem Wasser										
Agglutination	—	—	±	opt.	+	+	—	—	—	—
Zahl der Kolonien in 1 ccm	50 Mill.	25 Mill.	25 Mill.	10 Mill.	300 000	0	0	.	.	.
Vibrio Metschnikoff										
Agglutination	—	—	—	—	—	+	++	opt.	++	+
Zahl der Kolonien in 1 ccm	.	1½ Mill.	—	0	0	0	0	0	.	.

In Anwendung kamen 3 Stämme: 1 Typhus- (Optimum bei $0,7 \cdot 10^{-4}$), 1 Coli- (Optimum bei $0,7 \cdot 10^{-4}$) und 1 Vibrio Metschnikoff-Stamm (Optimum bei $1,1 \cdot 10^{-3}$). Die Säureagglutination wurde nach der oben angegebenen Technik angestellt. Die Röhrchen blieben so lange im Brutschrank, bis die Agglutination deutlich zu sehen war, dann wurden sie noch 1½ Stunde lang bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Dann wurden Verdünnungen (1 : 50, 1 : 2500) von einzelnen Röhrchen in physiologischer Kochsalzlösung gemacht (durch Schütteln in Kochsalzlösung werden die Flocken wieder

zu einer gleichmäßigen Aufschwemmung). Nun wurde von je einem Röhrchen (auch von den Verdünnungen) 0,1 auf Agar übertragen und auf Petrischalen gegossen. Die Platten wurden 24—48 Stunden lang bebrütet und dann die Zahl der Kolonien, resp. der am Leben gebliebenen Bakterien berechnet. Der Typhusstamm wurde parallel zweimal untersucht: die eine Aufschwemmung wurde in physiologischer Kochsalzlösung, die andere in destilliertem Wasser bereitet. Die letzte agglutinierte vorzüglich, die erste unvollkommen, die bakterizide Kraft der Säure blieb in beiden Reihen unverändert.

Nach den angegebenen Versuchen tritt wohl manchmal das Optimum der Säureagglutination mit dem Optimum der Bakterienabtötung durch Säure zusammen, aber nicht immer; denn es gibt Bakterienstämme, welche erst durch höhere Säurekonzentrationen ausgeflockt und schon durch viel geringere abgetötet werden (Vibrio Metschnikoff).

Einer der wichtigsten Unterschiede zwischen den beiden Phänomenen besteht in ihrem Verhalten bei Kochsalzzufügung. Kochsalz ist für die Serumagglutination unentbehrlich, für die Säureagglutination ist es störend. Die Säureausflockung gelingt dagegen vortrefflich bei Anwendung von destilliertem Wasser oder elektrolytisch nicht dissoziierten Lösungen (wie z. B. bei Anwendung einer isotonischen Traubenzuckerlösung).

Was wird nun geschehen, wenn man eine Bakterienaufschwemmung gleichzeitig oder nacheinander der Serum- und der Säurewirkung unterwirft? Wie verlaufen diese zwei Prozesse miteinander kombiniert? Mit dieser Frage beschäftigten sich Krumwiede und Pratt (11). Sie sensibilisierten ihre Typhusstämme mit so weit verdünntem Immunserum, daß es selbst kaum oder gar nicht mehr agglutinierte. Als sie dann die mit Serum eine Stunde lang bebrüteten Bakterien der Wirkung der Michaelisschen Säurelösungen unterwarfen, fanden sie, daß die Skala sich sowohl nach rechts wie nach links erweiterte, d. h. daß die sensibilisierten Bakterien sowohl bei niedrigen als auch bei höheren Wasserstoffionenkonzentrationen als die nicht sensibilisierten agglutiniert wurden. Bei optimaler [H˙] wurde die Ausflockung verstärkt.

Gleiche Versuche führte Sgalitzer (7) aus, wobei er sich aber nicht organischer Säuren, sondern der Salzsäure bediente. Er verdünnte das Serum (gleich wie Krumwiede und Pratt) soweit, daß es selbst nicht mehr agglutinierte.

Mit dieser Verdünnung sensibilisierte er die Bakterien ($^1/_2$ Stunde lang im Brutschrank) und unterwarf sie dann der Wirkung der Salzsäure in verschiedenen Konzentrationen. Er hat zwar keine Verschiebung des Optimums beobachten können, auch kein Auftreten der Agglutination bei geringeren Säurekonzentrationen als diejenige, welche zur Ausflockung nicht sensibilisierter Bakterien genügt, die Agglutination war aber deutlicher und die Agglutinationszone nach rechts (d. h. gegen höhere Säurekonzentrationen) erweitert. Er verwendete weiter auch Serum in einer Dosis, welche die minimale agglutinierende etwa 50mal überstieg, er suchte aber das Serum durch ein halbstündiges Erwärmen auf 70—75° seiner agglutinierenden Wirkung zu berauben. In diesem Experimente wurde die Ausfällungszone in zwei Abschnitte geteilt, welche durch eine Zone spurenweiser beim Immunserum, vollkommen fehlender Agglutination beim Normalserum getrennt waren. Er kommt im allgemeinen zu folgenden Schlüssen: „Es darf mit Sicherheit auf ein Zusammenwirken der Serumagglutination mit der ausflockenden Kraft der Salzsäure geschlossen werden, so daß die starke Ausflockung in Gegenwart von Immunserum als eine Summierung der ausflockenden Wirkungen der Säure, des Serumeiweißes und der Agglutinine anzusehen ist. Spezifische und künstliche Agglutination können sich gegenseitig in ihrer Wirkung unterstützen.“

Ich unternahm auch Untersuchungen über eine kombinierte Wirkung des Immunserums und der Säurelösungen. Das Serum wurde in Verdünnungen von 1 : 50 000 angefangen (der Titer des Typhusimmunserums No. I betrug 1 : 3000, No. II 1 : 10 000, des Choleraimmunserums 1 : 20 000) bis zu einer Verdünnung 1 : 100 verwendet, welche bei weitem das Minimum übertraf. Da die Bakterienaufschwemmung im destillierten Wasser ohne Kochsalzzusatz durch spezifisches Serum gar nicht ausgeflockt wird, während die Bakterien bei solchen Verhältnissen die Immunkörper sehr gut absorbieren (Bordet, 13; Joos, 14), erhitzten wir gar nicht das Serum, so wie es Sgalitzer gemacht hatte, sondern wir machten bloß die nötigen Serumverdünnungen in destilliertem Wasser, um den störenden Einfluß des Kochsalzes, welches im Serum enthalten ist, auf ein Minimum zu reduzieren. Auf diese

Weise ist es uns gelungen, sensibilisierte Bakterien zu bekommen, welche ein genügendes Quantum der spezifischen Agglutinine absorbiert hatten, und welche trotzdem eine homogene Aufschwemmung bildeten.

Die Resultate dieser Versuche geben folgende 3 Tabellen wieder.

In der Tabelle VI werden verwendet: Typhusimmunserum No. II in 4 Verdünnungen, als normales Pferdeserum ein Antistreptokokkenserum in denselben Verdünnungen, eine Bakterienaufschwemmung des Stammes Typhus Paris in destilliertem Wasser. Das erste Röhrchen enthält anstatt einer Säurelösung eine $^{1}/_{20}$-n Natriumacetatlösung, also dasjenige Salz, welches bei der Säureagglutination stets anwesend ist, und zwar in der gleichen Konzentration. In der Tabelle VII wurden Phosphatgemische verwendet, um bis an die alkalische Reaktion hinabsteigen zu können. In der Tabelle VIII wurde dasselbe Serum einmal als spezifisches Immunserum, das andere Mal als Normalserum gebraucht. Dies geschah dadurch, daß zwei Bakterienarten (Typhus und Cholera) mit den bezüglichen Sera kreuzweise behandelt wurden. In den Tabellen VI, VII, VIII wurde das Serum nach der Sensibilisierung nicht entfernt.

Die Ergebnisse sind folgende: Wird ein Immunserum in einer Konzentration 1 : 100 verwendet, so tritt eine äußerst starke Agglutination bei niedrigen [H·] ein, sie reicht von der neutralen Reaktion bis zu derjenigen [H·], welche gewöhnlich das Optimum der Säureagglutination darstellt. Das Abwaschen ist bei dieser Serumkonzentration unmöglich, da die mit Serum beladenen Bakterien beim Zentrifugieren trotz der

Tabelle VI.

	Neutr. Reaktion	$0,9 \cdot 10^{-5}$	$1,8 \cdot 10^{-5}$	$3,6 \cdot 10^{-5}$	$0,7 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$2,8 \cdot 10^{-4}$	$5,5 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-3}$	$2,2 \cdot 10^{-8}$	$4,4 \cdot 10^{-8}$
Typhus-Immunserum											
1 : 100	—	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
1 : 1000	±	++	++	++	++	++	++	+	±	—	—
1 : 10 000	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	±
1 : 50 000	—	—	—	+	opt.	+	+	+	+	+	+
Normal-Pferdeserum											
1 : 100	—	—	—	±	±	—	—	—	—	—	—
1 : 1000	—	±	±	+	+	+	+	+	—	—	—
1 : 10 000	—	—	—	+	opt.	+	+	+	+	+	+
1 : 50 000	—	—	—	+	,,	+	+	+	+	+	+
Typhusaufschwemmung	—	—	—	+	opt.	+	+	.	.	.	.

Tabelle VII.

	Phosphatgemische							Essigsäure-Acetatgemische							Milchsäure-Laktatgemische			
	$0{,}3 \cdot 10^{-7}$	$0{,}6 \cdot 10^{-7}$	$1{,}2 \cdot 10^{-7}$ neutr. Reaktion	$2{,}4 \cdot 10^{-7}$	$4{,}8 \cdot 10^{-7}$	$9{,}6 \cdot 10^{-7}$	$1{,}9 \cdot 10^{-6}$	$0{,}45 \cdot 10^{-5}$	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$0{,}7 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$	$5{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	$2{,}2 \cdot 10^{-3}$	$4{,}4 \cdot 10^{-3}$
Typhusaufschwemmung, sensibilisiert mit Typhusimmunserum No. 1 bei einer Verdünnung																		
1 : 100	·	·	·	·	·	·	+	+	++	++	++	++	+	—	—	—	—	—
1 : 1000	+	+	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	+	—	—	—	—
1 : 10 000	·	·	—	—	—	—	—	—	—	±	+	++	++	+	+	±	±	±
Normalserum																		
1 : 100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 1000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1 : 10 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	+	+	+	+	±	±	±
Typhusaufschwemmung allein	·	·	·	·	·	·	·	—	—	—	+	++ opt.	++	+	+	+	—	—

Tabelle VIII.

		Neutr. Reaktion	$0{,}9 \cdot 10^{-5}$	$1{,}8 \cdot 10^{-5}$	$3{,}6 \cdot 10^{-5}$	$0{,}7 \cdot 10^{-4}$	$1{,}4 \cdot 10^{-4}$	$2{,}8 \cdot 10^{-4}$	$5{,}5 \cdot 10^{-4}$	$1{,}1 \cdot 10^{-3}$	$2{,}2 \cdot 10^{-3}$	$4{,}4 \cdot 10^{-3}$
Typhusbacillen-aufschwemmung	Typhusimmunserum											
	1 : 100	+	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—
	1 : 1000	—	++	++	++	++	++	++	—	—	—	—
	1 : 10 000	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1 : 50 000	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
	Choleraserum											
	1 : 100	—	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—
	1 : 1000	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	1 : 10 000	—	—	—	±	+	+	±	±	±	±	±
	1 : 50 000	—	—	—	±	+	+	±	±	±	—	—
	allein	—	—	—	±	+	+	+	+	+	—	—
Cholera-aufschwemmung	Choleraserum											
	1 : 100	+	++	++	++	±	—	—	—	—	—	—
	1 : 1000	—	+	++	++	++	+	±	—	—	—	—
	1 : 10 000	—	—	+	++	++	++	++	+	—	—	—
	1 : 50 000	—	—	+	+	++	++	++	+	—	—	—
	Typhusserum											
	1 : 100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	1 : 1000	—	±	+	++	++	++	+	±	—	—	—
	1 : 10 000	—	—	+	++	++	++	++	+	—	—	—
	1 : 50 000	—	—	±	++	++	++	++	+	—	—	—
	allein	—	—	±	++	++	++	++ opt.	+	±	—	—

Verminderung des Salzgehaltes äußerst leicht ausflocken. Das Normalserum hemmt, in derselben Konzentration angewendet, die Säureagglutination entweder vollständig oder teilweise, verschiebt ein wenig die Agglutinationszone nach links, d. h. die mit Normalserum behandelten Bakterien flocken, wenn die Agglutination nicht vollkommen gehemmt wird, bei einer geringeren [H˙] als die Bakterien ohne jeglichen Zusatz.

Bei Verwendung eines mehr verdünnten (1 : 1000) Immunserums erweitert sich im Vergleich mit der Einwirkung des Serums 1 : 100 die Agglutinationszone nach rechts. Das Normalserum hemmt bei dieser Konzentration weniger deutlich. Wird die Verdünnung des Immunserums so weit getrieben, daß es im Titriervorversuch keine Agglutination mehr hervorruft, und werden die Bakterien damit sensibilisiert, so bekommt man keinen deutlichen Unterschied zwischen den spezifisch sensi-

bilisierten, den mit Normalserum behandelten und den ohne Zusatz gebliebenen Bakterien. Vielleicht ist bei den ersteren die Agglutinationszone ein wenig erweitert und die Reaktion ein wenig stärker.

Was die Deutung der gleichzeitigen agglutinierenden Wirkung der Sera und der Säure anbetrifft, so wäre vielleicht folgendes annehmbar. Größere Mengen von Serum hemmen die Säureagglutination gänzlich, wie das am deutlichsten bei Anwendung von Normalserum zu sehen ist. Kommt nicht Normalserum, sondern Immunserum in Betracht, so wird die Erscheinung zum Teil von der Serumagglutination verdeckt, welche um so deutlicher auftritt, je geringer die [H.] ist. Bei einem gewissen Grade von [H.] wird diese spezifische Serumagglutination durch die Einwirkung der Säure aufgehoben. Wenn die Sera in größerer Verdünnung zur Anwendung kommen, dann müssen natürlich diese Wechselwirkungen weniger deutlich hervortreten. Wenn man schließlich zu den extremen Serumverdünnungen übergeht, dann verwischen sich die Unterschiede vollkommen. Die leichtere Ausflockbarkeit der spezifisch sensibilisierten Bakterien, wie sie Pratt und Krumwiede beschreiben, konnten wir zum Teil bestätigen, man gewinnt aber gewissermaßen den Eindruck, daß in dieser Hinsicht die Unterschiede zwischen der Einwirkung der Immun- und der Normalsera nicht immer die gleichen sind.

Zusammenfassung.

1) Das Agglutinationsoptimum für Typhusbacillen liegt meistens bei $[H^{\cdot}] = 0{,}7 \cdot 10^{-4}$.

2) Ein Drittel der untersuchten Colistämme wurde säureagglutinabel gefunden, und zwar liegt das Optimum entweder bei $[H.] = 1{,}4 \cdot 10^{-4}$ bis $2{,}8 \cdot 10^{-4}$ oder bei $1{,}1 \cdot 10^{-3}$ bis $4{,}4 \cdot 10^{-3}$. Aus Harn bei Cystitis, resp. Pyelonephritis isolierte Colistämme scheinen relativ häufiger zu agglutinieren als andere.

3) Kapselbacillen sind mit geringen Ausnahmen durch Säure nicht ausflockbar; sie verhalten sich auch der Serumagglutination gegenüber resistent. Die nach Beham kapsellos gewordenen Stämme werden durch das Serum, nicht aber

durch Säure agglutinabel. In dieser Hinsicht scheint die Serumagglutination der Säureausflockung überlegen zu sein.

4) Die Anaëroben sind durch Säure leicht ausflockbar. Das Optimum für malignes Oedem, Rauschbrand, Botulinus beträgt $2{,}8 \cdot 10^{-4}$, für Tetanusbacillen $0{,}7 \cdot 10^{-4}$, für den Bac. butyricus $1{,}1 \cdot 10^{-3}$. Der Nekrosebacillus ist mit Säure nicht ausflockbar.

5) Die Abtötung der Bakterien durch Säure geht nicht mit ihrer Ausflockung parallel.

6) Zusatz von Normalserum in größeren Konzentrationen (1 : 100) wirkt hemmend auf die Säureausflockung. Zusatz von Immunserum in derselben Konzentration ergibt eine starke Agglutination mit der Verschiebung des Optimums nach links, d. h. in der Richtung der kleineren Wasserstoffionenkonzentrationen. Bei steigenden Verdünnungen der beiden Sera nimmt die Deutlichkeit dieser Erscheinung ab.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Direktor des Institutes, Herrn Prof. Dr. J. Nowak, für das liebenswürdige Entgegenkommen während der Anfertigung der Arbeit und dem I. Assistenten des Institutes, Herrn Dr. Z. Szymanowski, für die Anregung zu dieser Arbeit und für die lebhafte Unterstützung derselben in Rat und Tat meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

1) Michaelis, L., Deutsche med. Wochenschr., 1911, p. 969.
2) Beniasch, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 12, p. 314.
3) Michaelis und Skwirsky, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 4, p. 357.
4) Stepanoff-Grigorjeff, Russky Wratsch, 1912, p. 81; zit. nach Zeitschr. f. Immunitätsf., Ref., 1912, p. 207 und 435.
5) Beintker, Klin. Jahrb., Bd. 26, p. 383.
6) Rost, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 60, p. 324.
7) Sgalitzer, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 76, p. 209.
8) Jaffé, Arch. f. Hyg., Bd. 76, p. 1.
9) Beham, Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 66, p. 110.
10) Heimann, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 16, p. 127.
11) Krumwiede und Pratt, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 16, p. 517.
12) Arkwright, Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 22, p. 396.
13) Bordet, Annales de l'Inst. Pasteur, T. 13, 1899, p. 236.
14) Joos, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, p. 422.

[Aus Statens Seruminstitut Kopenhagen (Direktor: Dr. med. Th. Madsen).]

Versuche über Komplement. I.

Komplement und Ambozeptor.

Von **W. Leschly**,
Assistent am Institute.

(Eingegangen bei der Redaktion am 14. August 1915.)

Von den vielen Fragen über das Komplement, die in den letzten Jahren diskutiert wurden, hat vielleicht keine so umfassende praktische und theoretische Bedeutung, wie die Frage von den quantitativen Verhältnissen zwischen Ambozeptor und Komplement. Wenige andere sind deshalb auch Gegenstand so vieler Untersuchungen gewesen, doch steht auch heute Meinung gegen Meinung, weil die verschiedenen Forscher so überaus differente Resultate gewannen, selbst mit dem am meisten angewandten Systeme: Meerschweinchenkomplement, Hammelblutkörperchen und Ambozeptor von Kaninchen. Weil aber gerade die genaue Kenntnis dieser Verhältnisse die fundamentale Voraussetzung einer Verwertung der Komplementbindungsreaktionen in der praktischen Serodiagnostik, speziell der Wassermannschen Reaktion ist, habe ich versucht, diese Frage zu lösen, und glaube, durch meine Untersuchungen einige Ursachen mangelnder Uebereinstimmung der verschiedenen Verfasser gefunden zu haben.

Bei dem Zusammenwirken von Komplement und Ambozeptor bei der Hämolyse muß, um eine totale Hämolyse einer bestimmten Blutmenge hervorzurufen, selbstverständlich eine gewisse minimale Menge beider Faktoren zugegen sein. Diese kleinste Menge wird „Titer“ des betreffenden Faktors genannt. Weil es indessen eine allgemein verbreitete Meinung ist, die für totale Hämolyse nötige Menge des einen Faktors variiere erheblich der Menge gemäß, welche von dem anderen Faktor benutzt wird, muß der Titerbegriff notwendigerweise sehr schwebend sein. Die ersten, welche eine Variation dieser Art beobachtet haben, sind Gruber[1]), Ehrlich

1) Wien. klin. Wochenschr., 1902, No. 15.

und Morgenroth[1]), v. Dungern[2]); einer eingehenden Prüfung ist diese Frage hiernach von Morgenroth und Sachs[3]) unterworfen worden. Diese untersuchten mehrere verschiedene Kombinationen von Ambozeptoren und Komplementen und machten ausfindig, daß in einigen dieser Kombinationen eine Aenderung der Ambozeptormenge den Komplementtiter erheblich, in anderen wenig oder gar nicht beeinflußt. Die Variationen waren am stärksten bei Verwendung von Normalambozeptoren, kleiner bei Verwendung von Immunambozeptoren. Nach diesen Untersuchungen und mit anhaltender Verweisung auf dieselben trifft man in späteren Jahren, speziell in der die Wassermannsche Reaktion betreffenden Literatur, die Angabe, daß, was dem einen Faktor an Stärke fehlt, durch Vermehrung der Menge des anderen Faktors ersetzt werden könne. Speziell wird angegeben, die variierende Stärke des Meerschweinchenserums als Komplement könne durch Benützung verschiedener Ambozeptormengen ausgeglichen werden. Wie aus der angewandten Technik hervorgeht, beruht dies oft auf einer zu kurzen Beobachtung der Vorversuche [vgl. Eisenberg und Nitsch[4])], mit steigender Ambozeptormenge steigt nämlich die Reaktionsgeschwindigkeit. Aehnliche Resultate sind indessen auch von Verfassern, gegen deren Technik diese Einwendung nicht erhoben werden kann, veröffentlicht worden. So hat Noguchi[5])[6]) Versuche mitgeteilt, in denen er durch Vermehrung der Ambozeptormenge bis zum 10-fachen mit der Komplementmenge bis $^1/_5$ fallen kann und durch Steigerung der Ambozeptormenge bis zum 20-fachen sogar mit $^1/_{10}$ des mit der ursprünglich verwendeten Ambozeptormenge bestimmten Komplementiters komplette Hämolyse hervorrufen konnte. Aehnliche, obwohl nicht so große Variationen wurden von Kiss[7]), Sleeswijk[8]), Skwirsky[9]) und Scheller[10]) gefunden. Im hiesigen Institute wurden Variationen, die sich auch nur annäherungsweise mit den von anderen Seiten mitgeteilten messen können, nie wahrgenommen. Thomsen[11]) untersuchte mehr als 20 verschiedene Ambozeptoren und zahlreiche Meerschweinchensera und machte ausfindig, daß die Hämolyse, von einer bestimmten Komplementmenge hervorgerufen, beinahe dieselbe sei, ob er größere oder geringere Ambozeptormengen (1—32 Einheiten) benütze. Wenn andere Untersucher so große Variationen finden, beruht dies seines Erachtens darauf, daß sie auf die Tatsache, daß die Reaktion mit sehr verschiedener Geschwindigkeit verläuft, je nachdem

1) Berlin. klin. Wochenschr., 1901, p. 569.
2) Münch. med. Wochenschr., 1900, p. 677 u. 962.
3) Berlin. klin. Wochenschr., 1902, p. 631.
4) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 4, 1910, p. 331.
5) Ebenda Bd. 7, 1910, p. 353.
6) Serum diagnosis of syphilis, 1910.
7) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 3, 1909, p. 558.
8) Ebenda Bd. 5, 1910, p. 580.
9) Ebenda Bd. 5, 1910, p. 538.
10) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 56, 1910, p. 120.
11) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 7, 1910, p. 389.

man eine größere oder kleinere Ambozeptormenge verwendet, zu wenig Rücksicht nehmen.

Das Resultat, das ich durch Untersuchung von mehr als 40 verschiedenen Ambozeptoren [deren Einheit[1]) 0,0005 bis 0,02 ccm betrug] und einer sehr großen Anzahl Meerschweinchensera (teils von einzelnen Tieren, teils Mischungen mehrerer Sera) erreicht habe, stimmt im großen ganzen mit der von Thomsen behaupteten Ansicht überein und ist am kürzesten folgendermaßen zusammenzufassen: Der mittels einer bestimmten Menge Komplement oder Ambozeptor erreichte Hämolysegrad ist nur in geringem Maße von der Menge des anderen Faktors abhängig, insofern diese Menge die für die totale Hämolyse erforderliche Menge übersteige. Doch ist diese Regel nur dann gültig, wenn Komplement und Blutkörperchen frisch sind, und nicht für alle Ambozeptoren in größeren Dosen.

In betreff der verwendeten Technik ist folgendes zu erwähnen. Für die Verdünnung wurde 0,9-proz. Lösung von chemisch reinem Natriumchlorid, in den Versuchen als Kochsalzlösung bezeichnet, verwendet. Die Darstellung der Ambozeptoren ist dieselbe gewesen, welche gewöhnlich im Institute gebraucht wird [siehe Boas[2])]. Nach Inaktivierung während ½ Stunde bei 56° sind die Ambozeptoren in kleinen, etwa 5 ccm fassenden Flaschen bei ÷ 16° aufbewahrt worden. Wenn es sich nicht darum handelte, den Ambozeptortiter zu bestimmen, wurden die Blutkörperchenaufschwemmungen meistens mit der gleichen Menge Ambozeptorverdünnung (die berechnete Ambozeptormenge enthaltend) gemischt und diese Mischung der Komplementverdünnung hinzugefügt. In einzelnen Versuchen sind „sensibilisierte" Blutkörperchen verwendet, d. h. Blutkörperchen, die 1 Stunde bei 37° mit Ambozeptor gestanden haben und dann gewaschen worden sind. Die meisten Versuche wurden mit Hammelblutkörperchen angestellt; wie

---

1) Unter dem Ausdrucke „Ambozeptoreinheit" verstehe ich die geringste Menge Ambozeptorserum, welche imstande ist, 1 ccm einer 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung mit einer hinlänglichen Menge von Meerschweinchenserum bei 2-stündigem Aufenthalte im Wasserbade von 37° komplett zu lösen. In der Regel wurde dabei die Auswertung des Ambozeptors in einem Totalvolumen von 2,5 ccm mit 0,05 ccm Meerschweinchenserum und 0,5 ccm einer 5-proz. Blutkörperchenaufschwemmung vorgenommen und die hierdurch bestimmte Zahl mit 2 multipliziert. In den Versuchen bezeichne ich mit „Titer" diejenige kleinste Menge Ambozeptor oder Komplement, welche für totale Lösung der in den betreffenden Versuchen verwendeten Blutmenge erforderlich ist.

2) Die Wassermannsche Reaktion, Berlin 1911.

sie gewonnen und behandelt und wie die Aufschwemmungen hergestellt wurden, siehe Thomsen (l. c.).

Meerschweinchenserum wurde durch Durchschneiden der Carotiden gewonnen, das Blut wurde zur Gerinnung hingestellt, zentrifugiert und das Serum abpipettiert. Auf diese Weise gewonnen, ist das Serum weniger hämolytisch gefärbt, als wenn das Blut durch Schütteln defibriniert wird. Kaninchen- und Menschensera wurde in der Regel aus spontan koaguliertem Blute gewonnen, die anderen Sera dagegen meistens aus defibriniertem Blute. Einen sicheren, konstanten Unterschied zwischen den auf diese Weise gewonnenen Sera habe ich nicht beobachtet. Wo nichts anderes erwähnt oder sich aus den Versuchen ergibt, wurde die Titrierung mit 20-proz. absteigenden Dosen unternommen. Die Versuche wurden nach einem Aufenthalte von 2 Stunden bei 37° und bis zum nächsten Tage im Eiskeller bei 0—2° abgelesen. Innerhalb derselben Versuchsreihe wurde das Volumen durch Zusatz der erforderlichen Menge Kochsalzlösung konstant erhalten. Die Stärke der Hämolyse ist nach der im Institute [Th. Madsen[1])] verwendeten Methode kolorimetrisch bestimmt worden.

Zuerst werde ich durch einige Beispiele nachweisen, wie die Versuche sich unter den erwähnten Bedingungen gestaltet haben, und nachher die Bedeutung des Alters des Komplementes und der Blutkörperchen, sowie den Unterschied zwischen den verschiedenen Ambozeptoren erörtern.

So wird in der Regel eine Komplementtitrierung das Ergebnis wie im Versuche I haben, doch muß man zugeben,

Versuch I. Totalvolumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hbl.[2])-Aufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,001 ccm.

Komplementmenge	Ambozeptoreinheiten				
	1	2	5	10	20
0,026 ccm	100	100	100	100	100
0,024 „	95	98	98	98	98
0,022 „	92	95	95	95	95
0,02 „	90	90	95	95	95
0,018 „	85	90	95	95	90
0,016 „	85	85	90	90	85
0,014 „	80	80	85	80	80
0,013 „	65	65	70	70	70
0,012 „	55	60	65	60	65
0,011 „	50	50	55	50	55
0,01 „	35	35	45	40	40
0,009 „	25	25	30	30	30
0,008 „	15	18	19	20	22
0,007 „	11	12	13	13	14
0,006 „	9	10	10	11	12

1) Kraus-Levaditis Handb., Bd. 1, 1909.

2) Hbl. = Hammelblutkörperchen.

daß die Hämolyse mit einer Ambozeptoreinheit bisweilen etwas geringer als mit $1^1/_2$—20 Einheiten ist (siehe Versuch II), und daß einzelne Ambozeptorsera schon in einer Menge von 20 Einheiten hemmen können.

Versuch II. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung. Ambozeptoreinheit 0,0008 ccm. 4 verschiedene Meerschweinchenseren.

Ambozeptor-einheiten	Titer für Komplement No.			
	1	2	3	4
1	0,036	0,03	0,03	0,03
1,5	0,03	0,025	0,02	0,025
2	„	„	„	„
4	„	„	„	„
8	„	„	„	„
16	„	„	„	„
32	„	„	„	„

Als Beispiel einer Ambozeptortitrierung mag Versuch III angeführt werden. Die Abweichungen erklären sich wohl durch den Gehalt des Meerschweinchenserums an Normalambozeptoren, was sich deutlich daraus ergibt, daß die Abweichungen sich sehr vergrößern, wenn das Serum Normalambozeptoren enthält, und daß sie völlig verschwinden oder sich in jedem Falle erheblich vermindern lassen, wenn man die Normalambozeptoren entfernt (Versuch IV).

Versuch III. Volumen 2,5 ccm. Als Komplement eine Mischung von 6 Meerschweinchenseren.

Komplement-menge	Das Komplement unbehandelt		Das Komplement 2mal $^1/_2$ Std. bei 0° mit Hbl. behandelt		Kontrolle	
	Ambozeptortiter		Ambozeptortiter			
	Amb. I	Amb. II	Amb. I	Amb. II		
0,4 ccm	0,0001	0,0002	0,0002	0,0004	Kompl.	
0,3 „	0,00013	0,00025	„	„	unbeh.	Hämolyse
0,25 „	0,00016	0,00025	„	„	allein	
0,2 „	0,00016	0,0003	„	„	0,4	50
0,16 „	0,0002	0,0004	„	„	0,3	40
0,13 „	„	„	„	„	0,25	25
0,1 „	„	„	„	„	0,2	20
0,08 „	„	„	„	„	0,16	15
0,06 „	„	„	„	„	0,13	10
0,05 „	„	„	„	„	0,1	4
0,04 „	„	„	„	„	Kompl.	Hämolyse
0,03 „	„	„	„	„	behandelt	
0,025 „	> 0,02	> 0,02	> 0,02	> 0,02	0,4	0

Versuch IV. Volumen 2,5 ccm. Als Komplement eine Mischung von 5 frischen Meerschweinchenseren.

Ambozeptormenge	Komplement unbehandelt					Komplement 2mal $^1/_2$ Std. bei 0° mit Hbl. behandelt					Kontrolle	
	0,2	0,1	0,05	0.02	0,01	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01		
0,05 ccm	100	100	100	100	70	100	100	100	100	60	Kompl.	
0,02 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	unbeh.	Hämo-
0,01 „	„	„	„	„	65	„	„	„	„	55	allein	lyse
0,005 „	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	0,4	100
0,002 „	„	„	„	„	60	„	„	„	„	„	0,2	45
0,001 „	„	„	„	„	55	„	„	„	„	40	0,1	15
0,0005 „	„	90	70	60	40	70	60	55	50	30		
0,0002 „	60	35	25	20	10	30	20	15	15	8	Kompl.	Hämo-
0,0001 „	45	25	10	8	0	15	10	8	6	0	unbeh.	lyse
0,00005 „	45	15	4	0	0	10	4	2	0	0	0,2	0

Während die Wirkung der verschiedenen Ambozeptorsera in mäßigen Mengen (bis auf 20 Einheiten) sehr gleichmäßig ist, verhalten sie sich, wie erwähnt, in großen Mengen recht verschieden, lassen sich aber, ihrer verschiedenen Wirkung gemäß, in verschiedene Gruppen teilen.

Die Gruppe I umfaßt alle starken Ambozeptorsera (im ganzen 20) mit einem Titer von 0,001 ccm oder weniger, welche alle nur einen geringen Gehalt an Agglutinin hatten, nebst 2 Sera mit dem Titer 0,001 und 0,002 ccm, welche, schon in einer Menge von 20—25 Einheiten verwendet, kräftige Agglutination ergaben. Selbst in sehr großen Dosen (bis zu 200 Einheiten untersucht) haben alle diese Sera nur recht geringen Einfluß auf die hämolytische Fähigkeit des Komplementes. Beispiele Versuch V und VI.

Versuch V. Volumen 2,5 ccm. Als Komplement eine Mischung von 4 frischen Meerschweinchenseren.

Ambozeptoreinheiten	Komplementtiter
1	0,025 ccm
2	0,025 „
5	0,023 „
10	0,023 „
20	0,025 „
50	0,025 „
100	0,025 „
200	0,025 „

In Kontrollen ohne Komplement keine Hämolyse.

Versuch VI. Volumen 2,5 ccm. Als Komplement eine Mischung von 6 frischen Meerschweinchenseren.

Komplementmenge	Ambozeptoreinheiten							
	1	2	5	10	20	50	100	200
0,025 ccm	100	100	100	100	100	100	100	100
0,02 „	80	90	90	90	90	85	90	85
0,016 „	70	80	85	80	80	80	80	80
0,013 „	50	60	65	65	60	65	65	65
0,01 „	40	45	45	45	40	45	45	45
0,008 „	30	40	35	40	35	35	35	35
0,006 „	12	13	14	14	12	13	14	13
0,005 „	6	6	8	7	8	6	7	7
0,004 „	2	2	2	4	4	3	2	4

Die Gruppe II umfaßt alle schwächeren Ambozeptorsera (im ganzen 18), deren Titer über 0,002 ccm liegt. Eine Vermehrung der Ambozeptormenge verursacht bei dieser Gruppe eine geringere Wirkung des Komplementes. Diese ergibt sich, wie aus den Versuchen hervorgeht, auch bei Verwendung sensibilisierter Blutkörperchen und muß deshalb, wenigstens teilweise, auf Funktionen beruhen, welche von den Blutkörperchen gebunden werden können.

Versuch VII. Volumen 2,5 ccm. 2 Ambozeptoren No. 1 und 2. Titer für No. 1 = 0,002 ccm, für No. 2 = 0,01 ccm[1]). In Reihe I befinden sich die angegebenen Ambozeptormengen, in Reihe II sind die Blutkörperchen 1 Stunde bei 37° mit denselben Ambozeptormengen sensibilisiert, nachher zentrifugiert und einmal gewaschen.

Ambozeptoreinheiten	Komplementtiter			
	Reihe I		Reihe II	
	Amb. 1	Amb. 2	Amb. 1	Amb. 2
1	0,02	0,02	0,02	0,02
2	0,02	0,02	0,02	0,02
5	0,02	0,02	0,02	0,02
19	0,02	0,025	0,02	0,025
20	0,025	0,04	0,02	0,03
50	0,04	0,06	0,03	0,05

Die Gruppe III umfaßt nur 6 meiner Ambozeptorsera mit Titer zwischen 0,001 und 0,002 ccm. Diese Sera hatten

1) Ganz entsprechende Ergebnisse mit 2 Ambozeptorsera nach Forssman mit intravenösen Injektionen von Meerschweinchennierenemulsion hergestellt.

alle eine stark agglutinierende Fähigkeit und haben alle in größeren Mengen vermocht, Hämolyse ohne Komplement zu bewirken. Eine Vermehrung der Ambozeptormenge hat daher bei dieser Gruppe (dem Anscheine nach) eine stärkere Komplementwirkung erzeugt[1]). Eine Eigentümlichkeit der Hämolyse, welche diese Gruppe ohne Komplement erzeugt, ist die Langsamkeit, mit welcher sie erscheint — erst nach dem Eintritt kräftiger Agglutination. Eine Ablesung nach Verlauf von 2 Stunden und nach Verlauf von 20 Stunden wird daher sehr abweichende Resultate ergeben, und diejenigen, welche nach Verlauf von 2 Stunden erhalten werden, entsprechen am häufigsten dem Ergebnis bei Verwendung der Ambozeptorsera der Gruppe I. Beispiel Versuch VIII.

Versuch VIII. Volumen 2,5 ccm. Ambozeptoreinheit 0,0012 ccm.

Ambozeptoreinheiten	Komplementtiter	Kontrolle ohne Komplement	
		Hämolyse	Agglutination
1	0,02	0	0
2	0,02	0	0
5	0,02	0	0
10	0.02	0	0
20	0,02	0	deutlich
50	0,01	20	stark
100	0,006	80	sehr stark

Auf den ersten Blick scheinen diese Resultate bei ihrer Variabilität etwas entmutigend. Sieht man aber genauer nach, so dünkt es mir, daß ich dazu befugt bin, gewisse allgemeine Folgerungen zu ziehen. Wenn alle Sera, welche in der Raumeinheit die höchste Ambozeptorfunktion entfalten, bei denen also die absolut verwendeten Serumdosen am niedrigsten sind, das nämliche Verhalten aufweisen, daß nämlich die Komplementwirkung nur wenig gesteigert wird, selbst bei einer sehr großen Vermehrung der Ambozeptormengen, dünkt es

1) Diese Versuche gehören meinen frühesten an, später habe ich nie mit genügend inaktivierten Seren etwas Aehnliches beobachtet, dagegen habe ich ganz entsprechende Ergebnisse bei Verwendung nicht inaktivierter gelagerter oder kürzere Zeit inaktivierter Ambozeptoren erhalten. Es erscheint mir deshalb am wahrscheinlichsten, daß diese Resultate durch den Gehalt der Ambozeptorsera an nicht destruiertem Kaninchenkomplement bedingt sind.

mir absolut wahrscheinlich, daß die Ambozeptormenge an sich überhaupt nur geringe Bedeutung hat, insofern eine hinlängliche Menge vorhanden ist, um Totalhämolyse zu erzeugen, und daß man die abweichenden Verhältnisse, die man mit anderen Ambozeptoren antrifft, anderen Funktionen dieser Sera zuschreiben muß.

Man kann keinen Zweifel hegen, daß die individuellen Eigentümlichkeiten der Kaninchen in betreff der erwähnten Verschiedenheiten der Ambozeptorsera eine bedeutende Rolle spielen. Jedermann, der eine größere Anzahl Antisera hergestellt hat, wird die Erfahrung gemacht haben, daß Tiere eben von demselben Alter, Geschlecht und Gewicht, wenn auch auf dieselbe Weise behandelt, Antisera mit recht verschiedenen Eigenschaften liefern können. Dagegen ist es eine Frage, welchen Einfluß die Immunisierungsmethode ausübt; ich verfüge zwar nicht über Notizen in betreff aller meiner Ambozeptorsera bezüglich der Dauer der Behandlung, doch bin ich imstande, zu behaupten, daß durchgehends Sera von Tieren, welche die wenigsten Injektionen bekommen, auch die geringsten Nebenwirkungen gehabt haben (Agglutinine, Einfluß auf die Komplementwirkung, komplementbindende Antikörper). Die Sera der Gruppe II sind meistens von Kaninchen gewonnen, die eine größere Anzahl Injektionen bekommen haben. Ob eine fortgesetzte Immunisierung der Tiere, welche Sera der Gruppe I geliefert haben, eine Aenderung ihrer Sera in dem hier erwähnten Sinne hervorgerufen haben würde, erlaubt mein Material mir leider auch nicht zu entscheiden.

Daß wir die Ursache dieser Verschiedenheiten den Ambozeptorseren verdanken, ist entschieden, weil die Versuche oft an demselben Tage, mit denselben Blutkörperchen und demselben Komplemente unternommen sind, und trotzdem ein ganz verschiedenes Ergebnis mit den verschiedenen Ambozeptorseren erhalten worden ist. Aus mehreren Ursachen ist am häufigsten bei diesen Versuchen die nicht gebundene Ambozeptormenge nicht entfernt worden. Teils wünschte ich nämlich, der Anwesenheit der berechneten Menge Ambozeptor in den Versuchsgläsern sicher zu sein, und da die verschiedenen Ambozeptoren sich in sehr verschiedenem Maße binden

[Morgenroth[1]), Morgenroth und Rosenthal[2]) u. a.], so hätte man, falls man mit sensibilisierten Blutkörperchen zu arbeiten wünschte, die nicht gebundene Ambozeptormenge für jede einzelne Konzentration titrieren müssen, was in diesem Umfange praktisch unausführbar wäre; teils ist die in solchem Falle erforderliche Zentrifugierung kein gleichgültiger Eingriff (vgl. Versuch IX) und setzt die Resistenz der Blutkörperchen desto mehr herab, je stärker sie sensibilisiert, und je mehr Agglutinin das verwendete Ambozeptorserum enthält.

Jüngst ist diese Frage von v. Liebermann und v. Fenyvessy[3]), Bail und Suzuki[4]), Liefmann, Cohn und Orloff[5]) erwähnt worden; die Erscheinung, daß die agglutinierten Blutkörperchen ihr Hämoglobin abgeben, wenn sie auseinander geschüttelt werden, ist jedoch aus älteren Versuchen bekannt.

Versuch IX. Volumen 2,5 ccm. Ambozeptortiter 0,0003 ccm. Das Hammelblut wird mit 5 Ambozeptoreinheiten gemischt.

Komplementtiter,	Sofort	Nachdem das Blut 1 Stunde bei 37° verweilt	und weiter 3' zentrifugiert	und weiter 15' stark zentrifugiert
Doppelversuch	0,025	0,025	0,025	0,019
	0,025	0,025	0,023	0,019

In anderen Versuchen habe ich ganz entsprechende Resultate erhalten, jedoch sind diese je nach dem verwendeten Ambozeptorserum und der Zeit, während welcher zentrifugiert wurde, recht verschieden gewesen.

In genauer Verbindung hiermit steht die alte Streitfrage, ob Ambozeptorsera allein überhaupt einen schädlichen Einfluß auf Blutkörperchen ausüben [Friedberger[6]), Roessle[7]) u. a.]. In der jüngsten Zeit haben v. Liebermann und v. Fenyvessy[3]) behauptet, daß die Bindung des Ambozeptors an Blutkörperchen eine Herabminderung der Resistenz

1) Münch. med. Wochenschr., 1903, p. 61.
2) Biochem. Zeitschr., Bd. 36, p. 190, und Bd. 39, 1912, p. 88.
3) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 10, 1911, p. 479.
4) Ebenda Bd. 8, 1911, p. 592.
5) Ebenda Bd. 13, 1912, p. 150.
6) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 37, 1904, p. 125.
7) Münch. med. Wochenschr., 1904, p. 1865.

der letzteren herbeiführe, weil sie sahen, daß sensibilisierte Blutkörperchen von hypotonischen Kochsalzlösungen und auch bei Hinstehen in physiologischen Kochsalzlösungen leichter als nicht sensibilisierte gelöst wurden, was ich auch nach den Erfahrungen am hiesigen Institute völlig bestätigen kann.

Ein schädlicher Einfluß der Ambozeptorsera wird auch beobachtet — und besser demonstriert — werden können, wenn die Mischung von Ambozeptor und Blutkörperchen bei 37 ° statt bei 0 ° hingestellt wird.

Versuch X. Im Volumen 2,5 ccm werden 0,5 ccm 5-proz. Aufschwemmung von frischen Hammelblutkörperchen mit der angegebenen Anzahl Ambozeptoreinheiten (von Ambozeptor No. I [Titer 0,0008] und No. VIII [Titer 0,0004]) bei 37 ° hingestellt, zu den angegebenen Zeiten zentrifugiert und die eingetretene Hämolyse gemessen.

Nach	Ambozeptor-No.	Anzahl Ambozeptoreinheiten							
		1	2	5	10	20	50	100	200
3 Stunden	I	0	0	0	0	0	0	0	10
	VIII	0	0	0	0	0	0	0	0
4 Stunden	I	0	0	0	0	0	0	10	40
	VIII	0	0	0	0	0	0	0	6
5 Stunden	I	0	0	0	0	0	12	40	65
	VIII	0	0	0	0	0	0	4	20

In Proben, die 6 Stunden bei 37 ° ohne Ambozeptor gestanden hatten, keine Hämolyse.

Auch bei dieser Versuchsanordnung besteht, wie schon aus dem beigefügten Versuche hervorgeht, ein recht großer Unterschied zwischen den einzelnen Ambozeptorseren. Im großen und ganzen ist jedoch diese durch Ambozeptor allein hervorgerufene Hämolyse ganz unbedeutend.

Einen ganz anderen Verlauf nehmen die Versuche dagegen, wie schon erwähnt, wenn man sich aufbewahrter Blutkörperchen und Komplemente bedient. In solchem Falle übt nämlich, was ich in der Folge berücksichtigen werde, besonders die Ambozeptormenge einen starken Einfluß auf die Hämolyse aus.

Aufbewahrte Blutkörperchen. Wenn Blut dem Tiere steril entnommen und steril aufbewahrt wird, tritt selbst nach längerer Zeit (mehrere Wochen) keine Hämolyse ein.

Im Gegensatz dazu wird sich immer Spontanhämolyse ergeben, sei es daß die Blutkörperchen im Serum oder in Kochsalzlösung aufbewahrt werden, jedoch schneller in letzterer als im Serum. Daß Hämolyse sich im homologen Serum ergibt, ist wohl dem Bakterienwachstum zu verdanken; wenn die Hämolyse in Kochsalzlösung schneller eintritt, beruht diese Erscheinung darauf, daß eine Kochsalzlösung, auch wenn sie dem Serum isotonisch, jedoch eine den Blutkörperchen nicht indifferente Flüssigkeit ist. Bei Hämolyseversuchen gewähren diese späteren Stadien der Spontanhämolyse weniger Interesse, um so mehr dagegen die Aenderungen, welche vorausgehen Es läßt sich auf verschiedene Weise nachweisen, daß eine anhaltende Herabminderung der Resistenz stattfindet, und daß parallel hiermit der Komplementtiter im steigenden Maße von der verwendeten Ambozeptormenge abhängig wird.

Wenn man aufbewahrte Blutkörperchen mit Ambozeptor bei 37° hinstellt, lösen sie sich, wie aus Versuch XI hervorgeht, weit schneller teils als frische, was sich aus der spontanen Resistenzverminderung ergibt, teils als nicht sensibilisierte, was den schädlichen Einfluß des Ambozeptors feststellt. Aus dem Versuche ist auch ersichtlich, daß zwar der Komplementtiter für die frischen Blutkörperchen konstant bleibt, aber die für Totalhämolyse der aufbewahrten Blutkörperchen erforderliche Komplementmenge während des Versuches immer kleiner wird.

Versuch XI. Ambozeptortiter für 0,5 ccm 5-proz. Aufschwemmung von 1) frischen Hammelblutkörperchen, 2) 24 Stunden bei 0° als 5-proz. Aufschwemmung aufbewahrten Hammelblutkörperchen wird (im Volumen 2,5 ccm mit 0,05 ccm Meerschweinchenserum) zu 0,0002 resp. 0,0001 ccm bestimmt. 100 ccm jeder Aufschwemmung werden dann mit 100 ccm Kochsalzlösung, enthaltend 0,4 resp. 0,2 ccm Ambozeptorserum (= 10 Einheiten) gemischt und im Wasserbade bei 37° hingestellt. Zu den angegebenen Zeiten werden Proben genommen und an diesen die Spontanhämolyse und der Komplementtiter bestimmt.

Aufschwemmung	Spontanhämolyse						
	sofort	nach 1	2	3	4	5	6 Std.
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	20	30	65	100

Aufschwemmung	Komplementtiter						
	sofort	nach 1	2	3	4	5	6 Std.
1	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
2	0,016	0,013	0,01	0,006	0,005	0,002	0

Aufschwemmungen, die ohne Ambozeptor 6 Stunden bei 37° gestanden hatten, zeigen keine Spontanhämolyse, der Ambozeptortiter ist mit 10 Ambozeptoreinheiten für No. 1: 0,02 ccm, für No. 2: 0,013 ccm.

Aus dem Versuche XII ergibt sich weiter, daß **spontane Resistenzherabminderung langsamer eintritt, wenn die Blutkörperchen in einer geringen Menge Kochsalzlösung, als wenn sie in der Form dünnerer Aufschwemmung aufbewahrt sind.** In der Praxis bedeutet dies, daß man die Blutkörperchen als Zentrifugenniederschlag aufbewahren und so viel als möglich von der Waschflüssigkeit entfernen soll. Meistens lassen sich Blutkörperchen auf diese Weise noch nach einer Aufbewahrung im Eiskeller bis zu 2 Tagen für praktische Zwecke anwenden, jedoch ist es ratsam, zuerst die Resistenz zu untersuchen, wie fernerhin auseinandergesetzt wird.

Versuch XII. Ambozeptortiter für 0,5 ccm 5-proz. Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen, die 24 Stunden bei 0° gestanden hatten, teils 1) als Niederschlag nach dem Zentrifugieren, 2) als 5-proz. Aufschwemmung wird bestimmt: für No. 1 = 0,00025 ccm, für No. 2 = 0,00013 ccm. 100 ccm jeder Aufschwemmung werden mit 100 ccm Kochsalzlösung, enthaltend 0,5 resp. 0,26 ccm Ambozeptor, gemischt und im Wasserbade bei 37° hingestellt. Zu den angegebenen Zeiten werden Proben entnommen, die Spontanhämolyse und der Komplementtiter gemessen.

Aufschwemmung	Spontanhämolyse						
	sofort	nach 1	2	3	4	5	6 Std.
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	4	16	35	50	100

Aufschwemmung	Komplementtiter						
	sofort	nach 1	2	3	4	5	6 Std.
1	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
2	0,025	0,02	0,016	0,01	0,006	0,003	0

Aufschwemmungen, die ohne Ambozeptor 6 Stunden bei 37° gestanden hatten, zeigen keine Spontanhämolyse, der Komplementtiter ist mit 10 Ambozeptoreinheiten für No. 1 = 0,03, für No. 2 = 0,02 ccm.

Aus Versuch XIII erhellt die große Bedeutung der Resistenz der Blutkörperchen in betreff der ganzen Frage der Abhängigkeit der Komplementwirkung von der Ambozeptormenge. Während Blutkörperchen, als Zentrifugenniederschlag aufbewahrt, die nämlichen Verhältnisse wie frische Blutkörperchen darbieten, d. h. die Komplementwirkung ist von der Ambozeptormenge nur sehr wenig abhängig, wird die hämolytische Fähigkeit einer gegebenen Komplementmenge durch die Vermehrung der Ambozeptormenge bei Verwendung von Blutkörperchen, welche 24 Stunden als 5-proz. Aufschwemmung gestanden, erheblich gesteigert. Diese Erscheinung hat sich in allen meinen Versuchen wiederholt, wenn auch mit einigem Unterschied in den Einzelheiten, indem die Resistenz aller Blutkörperchen nicht mit derselben Geschwindigkeit abnimmt.

Versuch XIII. Volumen 2,5 ccm. Das Hammelblut ist 24 Stunden alt. Aufschwemmung 1 ist hergestellt von Blut, das als Niederschlag nach dem Zentrifugieren gestanden hatte; Aufschwemmung 2 hat als 5-proz. Aufschwemmung gestanden, beide bei 0°. Ambozeptortiter für 0,5 ccm Aufschwemmung 1 = 0,0005, Aufschwemmung 2 = 0,0003 ccm.

Komplementmenge	Aufschwemmung 1					Aufschwemmung 2				
	Ambozeptoreinheiten					Ambozeptoreinheiten				
	1	2	5	10	20	1	2	5	10	20
0,025 ccm	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0,02 „	90	90	90	90	95	95	„	„	„	„
0,016 „	80	75	80	80	80	80	90	„	„	„
0,013 „	55	55	60	60	60	60	75	90	„	„
0,01 „	35	35	40	45	45	40	55	75	„	„
0,008 „	20	22	22	25	25	22	40	55	90	90
0,006 „	12	13	14	12	13	15	22	38	80	80
0,005 „	8	8	9	10	10	10	18	25	65	70
0,004 „	2	4	4	6	6	6	10	14	45	40
0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	8

Die Frage stellt sich jetzt so: Wann hat die Resistenzherabminderung einen solchen Grad erreicht, daß sie auf die Abhängigkeit der Komplementwirkung von der Ambozeptormenge einen Einfluß ausübt? Dies geschieht, meinen Versuchen gemäß, sobald der Ambozeptortiter größer als gewöhnlich wird, d. h. wenn geringere Ambozeptormengen für die Totalhämolyse ausreichen. Wie aus Versuch XIV erhellt, kann zu dieser Zeit der Komplementtiter (bei Verwendung einer

kleinen Ambozeptormenge) noch unverändert sein, dagegen habe ich das umgekehrte Verhältnis: unveränderten Ambozeptortiter, aber vergrößerten Komplementiter nie beobachtet. Solange der Ambozeptortiter sich unverändert erhielt, habe ich auch immer dasselbe Verhältnis zwischen Ambozeptormenge und Komplementwirkung wie bei Verwendung frischer Blutkörperchen gefunden.

Versuch XIV. Volumen 2,5 ccm. Die Hammelblutkörperchen sind teils frisch, teils 2 Tage bei 0° als Niederschlag aufbewahrt. Für die aufbewahrten Blutkörperchen war der Ambozeptortiter am ersten Tage 0,0005 ccm (für $^1/_2$ ccm 5-proz. Aufschwemmung).

	Frische Blutkörperchen	Aufbewahrte Blutkörperchen
Ambozeptortiter (mit 0,05 ccm Komplement bestimmt)	0,005	0,0004
Komplementtiter (mit 2 Ambozeptoreinheiten bestimmt)	0,024	0,024

Infolgedessen soll man in der Praxis immer, wenn man untersuchen will, inwiefern Blutkörperchen normale Resistenz besitzen, einen Ambozeptor, dessen Titer man kennt, der betreffenden Aufschwemmung gegenüber austitrieren. Ist dieser Titer wie gewöhnlich, dann wird auch die Resistenz eine normale sein.

Während die Blutkörperchen der Hammel des Institutes durchgehends sehr konstante Verhältnisse darbieten, indem 5-proz. Aufschwemmungen beinahe dieselbe Anzahl Blutkörperchen in der Raumeinheit enthalten (Thomsen, l. c.), was sich dadurch ergibt, daß Ambozeptoren lange Zeit denselben Titer behalten, haben die Rinderblutkörperchen, die ich von den öffentlichen Schlächtereien erhalten habe, weit größere Variationen dargeboten (vgl. später Ferneres). Meines Erachtens ist es daher höchst wahrscheinlich, daß, wenn verschiedene Verfasser Resultate erhalten haben, welche so deutlich von den unserigen abweichen, sie öfters diese Ergebnisse obigem Verhältnisse zu verdanken haben, insbesondere wenn sie angeben, sich der Blutkörperchen von den öffentlichen Schlächtereien bedient zu haben.

Nach Snapper[1]), dessen Untersuchungen allerdings nicht die komplexen Hämolysine betreffen, soll wiederholtes Waschen

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 43, 1912, p. 256 u. 266.

mit Kochsalzlösung die Resistenz herabmindern; in meinen verschiedenen Versuchen hatte das Waschen keinen nachweisbaren Einfluß (Versuch XV), auch habe ich in diesen Versuchen mit Hammelblutkörperchen spontane Agglutination nicht beobachtet [so wie bei Pferdeblutkörperchen Atkins[1])]. In den meisten meiner Versuche sind daher Blutkörperchen verwendet, welche nur einmal gewaschen waren.

Versuch XV. Volumen 2,5 ccm. Als Komplement frisches Meerschweinchenserum. Nachdem die Hammelblutkörperchen durch Zentrifugieren vom Serum befreit waren, werden sie 1) 1mal, 2) 2mal, 3) 3mal, 4) 4mal gewaschen, unter jedesmaliger Anwendung der etwa 20-fachen Menge Kochsalzlösung. Von den Niederschlägen werden 4 5-proz. Aufschwemmungen hergestellt, für welche zuerst der Ambozeptortiter bestimmt wird (mit 0,05 ccm Komplement)[2]).

Ambozeptormenge	Hämolyse nach 24 Stunden mit Aufschwemmung No.			
	1	2	3	4
0,00025 ccm	100	100	100	100
0,0002 „	95	95	95	95
0,00016 „	90	90	90	90
0,00013 „	80	80	82	80
0,0001 „	75	75	70	75

Aufschw. No.	Ambozeptoreinheit	Komplementmenge									
		0,025	0,02	0,016	0,013	0,01	0,008	0,006	0,005	0,004	0
1	1	100	90	80	60	32	25	12	6	4	0
	5	„	95	80	60	35	30	12	8	4	0
	10	„	90	80	60	32	30	14	10	6	0
	20	„	90	80	65	42	30	20	12	8	0
2	1	100	90	75	55	40	22	10	8	6	0
	5	„	95	80	60	35	28	10	8	6	0
	10	„	90	80	60	40	22	12	8	4	0
	20	„	95	80	60	45	30	13	10	8	0
3	1	100	90	70	55	32	22	10	8	6	0
	5	„	90	75	55	35	25	10	10	4	0
	10	„	95	75	60	35	25	12	8	6	0
	20	„	90	75	55	40	32	12	8	4	0
4	1	100	90	70	52	32	22	13	10	4	0
	5	„	90	80	55	32	25	12	8	4	0
	10	„	95	80	55	30	22	12	10	8	0
	20	„	95	75	60	35	25	15	12	4	0

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 1, 1909.

2) Mehrere Versuche mit gleichem Resultate.

Von verschiedenen Verfassern [unter anderen L. Müller[1])] ist angegeben worden, die Resistenz der Blutkörperchen wäre verschieden, je nachdem das Blut defibriniert oder in Oxalat- oder Zitratlösung aufgenommen wurde. In meinen (4) Versuchen ist kein Unterschied zwischen den mit diesen Methoden gewonnenen Blutkörperchen gewesen.

Versuch XVI. Volumen 2,5 ccm. Das Blut wird einem Hammel durch Aderlaß entnommen, und zwar 1) in gewöhnlicher Weise defibriniert, 2) 50 ccm in 50 ccm 2-proz. Natriumoxalatlösung mit 0,9 Proz. NaCl, 3) 50 ccm in 50 ccm 2-proz. Natriumzitratlösung mit 0,9 Proz. NaCl. Alle drei werden 3mal mit 0,9-proz. Kochsalzlösung gewaschen und 5-proz. Aufschwemmungen hergestellt. Für alle drei wird der Ambozeptortiter mit 0,0005 bestimmt.

Komplementmenge	Blut No. 1						Blut No. 2						Blut No. 3					
	Ambozeptoreinheit						Ambozeptoreinheit						Ambozeptoreinheit					
	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32	1	2	4	8	16	32
0,025 ccm	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0,02 „	95	„	„	„	„	95	„	„	„	„	„	95	„	„	„	„	95	95
0,016 „	90	95	95	95	95	90	95	„	„	„	95	90	95	95	95	95	95	90
0,013 „	80	85	90	90	90	85	90	95	95	95	90	85	90	90	90	90	90	90
0,01 „	65	80	85	80	80	80	80	85	90	90	80	85	70	75	70	75	75	80
0,008 „	55	60	65	70	70	70	60	70	70	70	70	80	55	60	55	60	60	65
0,006 „	45	45	45	50	55	65	50	55	55	60	60	70	40	45	40	45	45	55
0,005 „	20	25	25	30	35	40	30	35	35	35	35	45	25	30	30	30	35	40
0,004 „	14	16	16	18	20	20	14	20	25	25	30	30	14	16	16	20	20	25
0,003 „	6	8	8	8	10	10	8	12	12	14	14	16	6	8	8	10	10	10
0,0025 „	0	4	4	4	6	6	0	4	4	6	6	8	2	2	2	4	4	4

Aufbewahrtes Komplement. Der zweite Punkt, welcher in dieser Beziehung eine Rolle spielt, ist das Alter des Meerschweinchenkomplementes. Beim Lagern des Serums, sei es bei 0° oder bei Stubentemperatur, und sowohl beim Lagern mit dem Gerinnsel wie in abpipettiertem Zustande, geschieht allmählich eine Umbildung, welche zur Folge hat, daß die Komplementwirkung von der Ambozeptormenge in höherem Maße abhängig wird, als es bei Verwendung frischen Serums der Fall ist. Diese Umbildung ergibt sich aber nicht oder in jedem Falle weit langsamer, wenn das Serum in gefrorenem Zustande aufbewahrt wird (bei ÷ 16°), siehe die Versuche XVII und

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 57, 1911, p. 577.

XVIII. In diesem Zusammenhange verdient hervorgehoben zu werden, daß Sachs und Teruuchi[1]) ausfindig machten, daß die Inaktivierung des Meerschweinchenkomplementes durch Verdünnung mit destilliertem Wasser bei 37° sich nur dann ergäbe, wenn das Serum frisch oder in gefrorenem Zustande aufgehoben würde, nicht bei Benützung auf andere Weise aufbewahrten Serums; vgl. auch Schmidt[2]).

Versuch XVII. Volumen 2,5 ccm. Das Hammelblut frisch. Als Komplement Meerschweinchenserum 24 Stunden aufbewahrt, 1) gefroren bei ÷ 16°, 2) bei 0°, 3) bei ca. 18°. Ambozeptortiter, bestimmt mit 0,05 ccm des bei ÷ 16° aufbewahrten Serums, = 0,001 ccm.

Anzahl Ambozeptoreinheiten	Titer für Serum No.		
	1	2	3
1	0,025	0,04	0,06
2	0,02	0,03	0,04
5	,,	0,025	0,03
10	,,	0,02	0,025
20	,,	,,	0,02
50	,,	,,	,,

Versuch XVIII. Volumen 2,5 ccm. Das Hammelblut frisch. Als Komplement 24 Stunden altes Meerschweinchenserum (von mehreren Tieren), teils 1) vom Gerinnsel abpipettiert und bei ÷ 16° aufbewahrt, teils mit dem Gerinnsel gestanden 2) bei 0° und 3) bei ca. 1,8°. Ambozeptortiter mit 0,05 ccm von Serum No. 1 = 0,0006 ccm.

Komplementmenge	Serum No. 1					Serum No. 2					Serum No. 3				
	Ambozeptoreinheiten					Ambozeptoreinheiten					Ambozeptoreinheiten				
	1	2	5	10	20	1	2	5	10	20	1	2	5	10	20
0,1 ccm											100	100	100	100	100
0,08 ,,											95	,,	,,	,,	,,
0,06 ,,											80	,,	,,	,,	,,
0,05 ,,						100	100	100	100	100	70	90	,,	,,	,,
0,04 ,,						90	,,	,,	,,	,,	50	75	,,	,,	,,
0,03 ,,	100	100	100	100	100	80	90	,,	,,	,,	35	60	90	,,	,,
0,025 ,,	90	,,	,,	,,	,,	70	80	90	90	,,	18	14	80	90	95
0,02 ,,	80	90	90	85	90	55	65	75	80	85	10	30	60	70	75
0,016 ,,	70	80	75	75	80	45	50	55	60	75	6	16	40	55	60
0,013 ,,	55	60	65	60	65	35	40	45	45	50	2	8	25	40	45
0,01 ,,	40	45	42	42	42	20	25	30	30	40	0	6	14	30	35
0 008 ,,	30	35	30	25	35	6	8	10	12	25	.	2	6	18	22
0,006 ,,	12	14	10	12	12	2	4	4	5	6	.	0	2	8	12
0,005 ,,	6	8	6	6	6	0	0	2	2	2	.	.	0	4	6
0,004 ,,	2	2	2	2	2	.	.	0	0	0	.	.	.	0	2

1) Berl. klin. Wochenschr., 1907, p. 467.
2) Arch. f. Hyg., Bd. 76, p. 284.

Auch hierbei läßt sich eine Erklärung des Unterschieds zwischen den hier im Institute und den anderswo errungenen Resultaten auffinden; während wir uns nämlich frischen Serums bedienen, geben mehrere Verfasser, wie z. B. Noguchi, an, daß sie Serum verwenden, das 20—24 Stunden mit dem Gerinnsel gestanden. Die Veränderungen, die ich mit Serum, das 24 Stunden mit dem Gerinnsel bei 0° gestanden, wahrgenommen habe, sind jedoch nie erheblich genug gewesen, um die ganze Differenz zu erklären. Nur durch Aufbewahrung während längerer Zeit (mehrere Tage) wird die Umbildung so groß, daß die Resultate der Versuche sich den Ergebnissen Noguchis annähern.

Versuch XIX. Volumen 2,5 ccm. Als Komplement Meerschweinchenserum, das 4 Tage teils bei + 16°, teils bei 0° gestanden. Ambozeptortiter, mit 0,05 ccm bestimmt, = 0,0005 ccm.

Anzahl Ambozeptoreinheiten	Komplementtiter
1	0,05
2	0,04
5	0,03
10	0,02
20	0,01

Selbstverständlich kann man dagegen durch Benützung sowohl aufbewahrter Blutkörperchen als auch aufbewahrter Komplemente noch größere Differenzen erhalten. So habe ich mit soeben angekommenen Rinderblutkörperchen, (die jedoch eine deutlich herabgesetzte Resistenz zeigten) und mit Meerschweinchenserum, welches 2 Tage mit dem Gerinnsel bei 0° gestanden, 1mal einen Verlauf der Komplement- und Ambozeptortitrierung wahrgenommen, welcher sich mit demjenigen Noguchis messen könnte. Daß Serum kranker Tiere abweichende Ergebnisse zeitigen kann, möchte ich nur der Vollständigkeit wegen erwähnen.

Daß die Reaktionsgeschwindigkeit bei Verwendung verschiedener Mengen Komplement und Ambozeptor variiert, wird erwähnt, aber kaum hinlänglich geschätzt. Die Bedeutung der Ambozeptormenge ist von Thomsen (l. c.) betont worden, denselben Einfluß hat ebenfalls die Komplementmenge. Im Versuch XX ist z. B. der Ambozeptortiter der gleiche bei

Verwendung von Komplementmengen von 0,08—0,02 ccm, die Reaktion ist dagegen mit der großen Komplementmenge binnen 1/4 Stunde zu Ende, mit 0,02 ccm erst nach Verlauf von 2 Stunden, d. h. der Ambozeptortiter kann mit 0,08 ccm Komplement nach 1/4 Stunde abgelesen werden, mit 0,02 ccm erst nach 2 Stunden, mit kleineren Komplementmengen gibt auch die 100-fache Menge Ambozeptor selbst nach 4 Stunden nicht totale Hämolyse.

Versuch XX. Volumen 2,5 ccm. Als Komplement eine Mischung von 4 Meerschweinchensera.

Komplement-menge	Ambozeptortiter nach				
	1/4 Std.	1/2 Std.	1 Std.	1 1/2 Std.	2—4 Std.
0,08	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
0,06	0,0003	"	"	"	"
0,05	0,0004	"	"	"	"
0,04	0,0006	0,00025	"	"	"
0,03	0,0008	0,0003	"	"	"
0,025	0,001	0,0004	0,00025	"	"
0,02	0,002	0,0005	0,0004	0,00025	"
0,016	> 0,02	> 0,02	> 0,02	> 0,02	> 0,02

Die Geschwindigkeit ist jedoch [cf. auch Amiradzibi und Baecher[1])] bei weitem nicht immer am größten bei den größten Mengen, im Gegenteil findet sich für jede Komplementmenge eine (oder mehrere) optimale Ambozeptormenge; dieses optimale Verhältnis variiert, ebenso wie das hämolytische Endresultat, sowohl mit den einzelnen Ambozeptoren als auch mit den einzelnen Komplementen.

Für die Bestimmung der Einheit sowohl für Komplement, als auch für Ambozeptor soll man daher in der Praxis zu kleine Mengen des anderen Faktors nicht anwenden, weil dadurch die Hämolysegeschwindigkeit herabgesetzt wird und infolgedessen die Zeit, durch welche die Versuche beobachtet werden müssen, um fehlerhafte Resultate zu vermeiden, eine längere sein muß.

Nicht ganz selten findet man in der Literatur Angaben, welche darauf hinzielen, daß, außer den schon erwähnten von

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 6, 1910, p. 311.

quantitativen Verhältnissen bedingten Variationen des Titers, sich auch andere Variationen, von individuellen Verschiedenheiten der benutzten Sera hervorgerufen, darbieten. Das nämliche Komplement soll so verschiedene Titer mit verschiedenen Ambozeptoren (von derselben Tierart und in derselben Menge) und umgekehrt, der nämliche Ambozeptor verschiedenen Titer bei Verwendung verschiedener Komplemente (von derselben Tierart) haben können.

Besonders stark ist dies von Scheller und Goldschmidt[1]) hervorgehoben worden, welche behaupten, sehr große Variationen bei Meerschweinchenkomplementen und Kaninchenambozeptoren gefunden zu haben. In ihrem Artikel ist aber, worauf auch Fränkel[2]) verweist, nirgends angegeben, wann die Versuche abgelesen worden, so daß es keineswegs entschieden ist, daß der vermutete Titer in der Tat der „Titer" gewesen ist.

Selbst habe ich, um diese Frage zu prüfen, einige 20 Ambozeptorsera und mehr als 50 Meerschweinchensera (frische Sera von gesunden Meerschweinchen) mit einer der von Scheller und Goldschmidt[1]) gebrauchten entsprechenden Technik geprüft: der Ambozeptortiter wird mit einem konstanten Volumen Meerschweinchenserum bestimmt, mit 2-mal den für jedes Komplement bestimmten Titer ist zunächst jedes Komplement austitriert. Der Ambozeptortiter wurde nach 2 Stunden bei 37° abgelesen, der Komplementtiter nach 2 Stunden bei 37° und hernach im Eiskeller bis am nächsten Tage. Scheller und Goldschmidt entgegengesetzt, habe ich nie mehr als recht unbedeutende Variationen im Titer gefunden und nicht größer, als daß sie innerhalb des Versuchsfehlers liegen könnten. Als ein Beispiel kann der folgende Versuch angeführt werden.

Versuch XXI. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung. Technik wie im Texte. 7 verschiedene Ambozeptoren und 6 frische Meerschweinchensera. Ambozeptortiter mit 0,05 ccm Komplement, Komplementtiter mit 2 Ambozeptoreinheiten bestimmt.

---

1) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 58, 1911, p. 569.
2) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 10, 1911, p. 388.

I. Ambozeptortiter.

Ambozeptor	Komplement No.					
	1	2	3	4	5	6
1	0,006	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
2	0,0005	0,0006	0,0005	0,0005	0,0005	0,0005
3	0,0016	0,002	0,0016	0,0016	0,0016	0,0016
4	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
5	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008	0,008
6	0,002	0,002	0,002	0,0025	0,002	0,002
7	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,0008	0,008

II. Komplementtiter.

Ambozeptor	Komplement No.					
	1	2	3	4	5	6
1	0,013	0,02	0,013	0,02	0,016	0,02
2	0,013	0,016	0,013	0,02	0,013	0,016
3	0,013	0,016	0,013	0,02	0,013	0,016
4	0,013	0,016	0,013	0,02	0,013	0,016
5	0,013	0,02	0,013	0,02	0,013	0,016
6	0,013	0,016	0,013	0,02	0,013	0,016
7	0,013	0,016	0,013	0,02	0,016	0,016

Ebensowenig wie bei der Bestimmung des Titers finden sich größere individuelle Verschiedenheiten, wenn man geringere Komplementmengen benutzt.

Versuch XXII. Technik wie im vorigen Versuche. 3 Ambozeptoren (No. 9 ca. 1 Jahr alt, No. 40 und 41 ganz frische) und 3 frische Meerschweinchenseren.

Ambozeptor No.	Ambozeptortiter mit Komplement No. 1	No. 2	No. 3
9	0,003	0,003	0,003
40	0,0002	0,0002	0,0002
41	0,0005	0,0005	0,0005

Komplementmenge	Komplement 1 u. Amboz. No.			Komplement 2 u. Amboz. No.			Komplement 3 u. Amboz. No.		
	9	40	41	9	40	41	9	40	41
0,03 ccm	100	100	100	100	100	100	100	100	100
0,025 „	„	„	„	95	95	98	98	95	98
0,02 „	95	95	95	90	90	90	90	90	90
0,016 „	90	90	90	70	75	70	70	75	70
0,013 „	75	75	75	58	55	55	55	55	60
0,01 „	60	55	55	32	30	32	35	32	32
0,008 „	38	35	35	20	20	18	25	19	19
0,006 „	18	15	20	8	7	7	8	7	7

Während sich also kein großer Unterschied im erreichten hämolytischen Endresultat findet, bietet die Geschwindigkeit, mit der die Reaktion verläuft, einen nicht geringen Unterschied dar.

Versuch XXIII. Technik wie im vorigen Versuche. 2 frische Meerschweinchenseren.

Komplementmenge	Ambozeptortiter mit					
	Komplement No. 1 nach			Komplement No. 2 nach		
	20′	30′	120′	20′	30′	120′
0,05 ccm	0,0003	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002	0,0002
0,04 „	0,0004	0,0003	0,0002	0,00025	0,0002	„
0,03 „	0,0005	0,0004	0,0002	0,0004	0,0003	„
0,025 „	> 0,01	> 0,01	> 0,01	0,0005	0,0004	„
0,02 „	„	„	„	> 0,01	> 0,01	> 0,01

Komplementtiter { No. 1 = 0,03
No. 2 = 0,025

Durchgehends habe ich wahrgenommen, daß die Komplementsera, mit welchen die Reaktion am schnellsten zu Ende geht, mehr Komplement enthalten. Wenn die Reaktion mit diesen Seren schneller verlaufen ist, kann dies von ganz quantitativen Verhältnissen abhängen. Daß die Reaktionsgeschwindigkeit nur von der im Serum enthaltenen Menge Komplement bedingt sei, darf ich nicht behaupten, auch scheint es mir nicht wahrscheinlich. Nur vermute ich, daß in frischem Meerschweinchenserum der Komplementgehalt die größte Rolle spielt, weil ich nie einen auffallenden Unterschied der Reaktionsgeschwindigkeit gefunden habe, wenn ich „äquivalente" Mengen, d. h. das nämliche Multiplum des Titers, verwendet habe.

Auch die andere Hälfte des Versuches, die Komplementtitrierung, verläuft nicht mit gleicher Geschwindigkeit, im Gegenteil kann sich ein nicht ganz unbedeutender Unterschied je nach dem verwendeten Ambozeptorserum finden.

In der Regel haben die stärksten Ambozeptoren am schnellsten und ältere geschwächte langsamer Hämolyse gegeben, jedoch haben etliche ältere, recht geschwächte ebenfalls schnell gewirkt.

In dieser Verbindung hat es einiges Interesse, daß Morgenroth und Rosenthal[1]) ausfindig gemacht haben, daß Ambozeptorsera nach $^1/_2$-stündigem Erwärmen auf 65°, wodurch sie an Stärke und Avidität geschwächt werden, schneller als nicht erwärmte Hämolyse hervorrufen. In den einzelnen Versuchen kann man es kaum für ausgeschlossen erachten, daß das Ergebnis Fehlern der Technik (der Unmöglichkeit einer ganz genauen Titerbestimmung u. dgl.) zu verdanken sei. Wenn aber in wiederholten Versuchen der Ausschlag immer auf derselben Seite liegt, kann es auf Zufälligkeit kaum beruhen, es sei denn, daß individuelle Eigentümlichkeiten der verwendeten Ambozeptorseren, von der Ambozeptorfunktion selbst verschieden, vorliegen. In Ambozeptorseren, die durch Lagern geschwächt waren, habe ich entsprechende Verhältnisse nicht gefunden; Stärke und Avidität sind wohl durchgehends herabgemindert worden, einige haben aber schnelle, andere langsame Hämolyse gegeben (selbstverständlich mit gleicher Anzahl Einheiten und gleicher Menge desselben Komplementes). Schon hieraus ergibt sich, daß zwischen Avidität und Hämolyseschnelligkeit kein direkter Zusammenhang ist, obgleich die avidesten Ambozeptoren in der Regel auch die schnellsten Hämolysen erzeugen.

Direkte Versuche über diese Frage habe ich nur in geringem Umfange gemacht; ebensowenig wie zwischen Stärke und Geschwindigkeit habe ich zwischen Avidität und Geschwindigkeit der verschiedenen Ambozeptoren je einen konstanten Zusammenhang gefunden.

Versuch XXIV. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung. 3 Ambozeptoren, No. 9 1 Jahr alt, etwas geschwächt, No. 41 ganz frisch und No. 42 3 Monate alt, unverändert.

Ambozeptortiter nach 2 Stunden mit 0,05 ccm Komplement:

Ambozeptor No. 9	0,005 (> 0,0045)
„ „ 41	0,0002 (> 0,00016)
„ „ 42	0,0005 (> 0,00045)

Im Volumen 4 ccm werden 3mal 1 ccm Blutaufschwemmung mit 20 Einheiten von je einem der 3 Ambozeptoren 1 Stunde bei 37° hingestellt, dann wird zentrifugiert und die Flüssigkeit auf Ambozeptorinhalt geprüft (mit 0,05 ccm Komplement 0,5 ccm Blutaufschwemmung).

---

1) Biochem. Zeitschr., Bd. 36, 1911, p. 190.

Flüssigkeit von der Probe mit

Ambozeptor No.	in der Menge von 2 ccm	1 ccm	also nicht gebunden
9	100	50	ca. 1 Einheit
41	30	16	< 1/2 "
42	100	100	> 1 "

(Ambozeptor No. 41 wird am besten gebunden.)

Im Volumen 2,5 ccm mit 0,5 ccm Blutaufschwemmung werden Mischungen mit 2 Einheiten von den 3 Ambozeptoren und den angegebenen Komplementmengen hergestellt. Damit die Reaktion zu gleicher Zeit anfange, werden die verschiedenen Komponenten im voraus bis 0° abgekühlt und die Mischung im Eiswasser vorgenommen. Das Reagenzgestell mit sämtlichen Proben wird dann ins Wasserbad bis 37° gebracht, zu der angegebenen Zeit werden die Proben herausgenommen, sogleich im Eiswasser gekühlt und so schnell wie möglich in Zentrifugenröhrchen, die im Eiswasser stehen, zentrifugiert.

Ambozeptor No.	Komplementmenge				
	0,04 ccm		0,03 ccm	0,02 ccm	0,015 ccm
	nach 9'	nach 11'	nach 11'	nach 30'	nach 30'
9	60	90	80	60	40
41	65	90	80	60	40
42	20	45	25	30	22

(Ambozeptor No. 42 hämolysiert also deutlich langsamer als die beiden anderen.)

Nach 2 Stunden Stehen bei 37° und 20 Stunden Aufenthalt im Eiskeller erfolgt mit allen Ambozeptoren die gleiche Hämolyse.

Ambozeptor No.	Komplementmenge 0,04	0,03	0,02	0,015
9	90	80	60	45
41	"	"	"	42
42	"	"	"	45

Das Endresultat ist also das gleiche, ein Zusammenhang zwischen Stärke, Avidität und Hämolyseschnelligkeit hat sich nicht erwiesen.

Wenn es daher auch einigermaßen als gewiß erachtet werden muß, daß sich in Ambozeptorseren andere Funktionen finden, welche auf die Geschwindigkeit, mit welcher die Hämolyse verläuft, Einfluß ausüben, so hat doch der Gehalt an Ambozeptorfunktion für die Reaktionsgeschwindigkeit die größte Bedeutung.

Die besondere Fähigkeit, mehr oder weniger schnelle Hämolyse hervorzurufen, ist übrigens auch von der Menge,

welche von dem betreffenden Ambozeptorenserum benutzt wird, abhängig.

Versuch XXV. Technik wie im vorigen Versuch. Dieselben Ambozeptoren, dasselbe Komplement, dieselbe Hammelblutaufschwemmung.

Komplementmenge	Zentrifugiert nach	Ambozeptor			
		Menge	No. 9	No. 41	No. 42
0,015 ccm	15′	20 Einh.	45	30	45
„	„	10 „	30	25	20
„	„	6 „	25	20	16
„	„	3 „	22	20	12
„	„	2 „	18	18	6
„	„	1 „	8	6	2

Man kann kaum Zweifel hegen, daß diese Verschiedenheiten wie mehrere früher erwähnten auf anderen Funktionen wie die Ambozeptorfunktion in den als Ambozeptoren benutzten Seren beruhen müssen. In praktischer Beziehung kann diesen Eigentümlichkeiten doch keine Bedeutung beigelegt werden.

Weder in Komplementen noch in Ambozeptoren haben sich in diesen Untersuchungen individuelle Eigentümlichkeiten von irgendwie praktischer Bedeutung kenntlich gemacht.

Mit Meerschweinchenserum als Komplement habe ich außer dem am Institut für praktischen Gebrauch benutzten hämolytischen System mit Hammelblutkörperchen die Verhältnisse durch Verwendung von Rinder- und Schweineblutkörperchen gleichfalls untersucht; als Ambozeptoren sind auch in diesen Fällen ausschließlich Immunsera von mit den betreffenden Blutarten behandelten Kaninchen verwendet.

Rinderblut habe ich in etwas größerer Ausdehnung untersucht, weil es an mehreren Stellen für den praktischen Gebrauch benutzt wird. Wie schon erwähnt, sind meine Resultate hiermit weit weniger konstant als bei Benutzung frischer Hammelblutkörperchen gewesen. Die Ursache dieser Ergebnisse läßt sich gewiß, wie schon früher berührt, in Verschiedenheiten der benutzten Blutkörperchen suchen, was wahrscheinlich auch damit in Verbindung steht, daß das Rinderblut von den öffentlichen Schlächtereien bezogen wurde. Teils gibt man sich gewiß dort bei dem Gewinnen des Blutes nicht

so große Mühe, wie hier am Institut bei dem Aderlaß der Schafe, teils darf Rinderblut, bevor die Tiere untersucht sind, nicht ausgeliefert werden, was die Ursache ist, daß uns das Blut in der Regel erst ungefähr $^1/_2$ Tag später erreicht, nachdem es gewonnen ist. Frisches, d. h. soeben empfangenes Rinderblut kann jedenfalls nicht selten Verhältnisse darbieten, welche sonst für aufbewahrte Blutkörperchen charakteristisch sind. Da verschiedene Verfasser angeben, Blut von Schlächtereien zu benutzen, scheint es mir daher nicht ausgeschlossen, daß dieser Umstand dazu beiträgt, ihre Resultate von den unseren so abweichend zu machen.

Da Meerschweinchenserum durchgehends bei weitem mehr Normalambozeptoren für Rinder- als für Hammelblut besitzt, spielen die Normalambozeptoren eine weit größere Rolle in Systemen mit Rinderblutkörperchen, als wenn man Hammelblutkörperchen verwendet. Die Immunsera, welche ich untersucht habe (im ganzen 3), haben alle recht hohen Titer, enthalten nur geringe Agglutininmengen und rufen selbst in großen Dosen (200-fachem Titer) Hämolyse nicht hervor.

In den meisten meiner Versuche habe ich durch Verwendung frischer Rinderblutkörperchen dieselben Ergebnisse erzielt wie mit frischen Hammelblutkörperchen.

Versuch XXVI. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Rinderblutaufschwemmung. Meerschweinchenserum mit Rinderblut behandelt bei 0°.

Ambozeptormenge	Komplementmenge							
	0,2	0,1	0,07	0,05	0,03	0,02	0,01	0,007
0,1 ccm	100	100	100	100	100	100	90	80
0,07 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,05 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,03 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,02 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,01 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,007 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,005 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,003 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,002 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,001 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,0007 ”	”	”	”	”	”	”	”	”
0,0005 ”	95	95	95	95	95	95	70	60
0,0003 ”	90	90	90	90	85	80	50	35
0,0002 ”	85	80	80	75	70	65	40	20
0,0001 ”	80	75	70	65	55	45	18	6

0,2 ccm Komplement ohne Ambozeptor keine Hämolyse.

Ab und zu haben sich mit frischen Rinderblutkörperchen ganz andere Verhältnisse ergeben, indem wie bei Verwendung aufbewahrter Hammelblutkörperchen, Komplement- und Ambozeptorwirkung von der verwendeten Menge des anderen Faktors sehr abhängig gewesen ist. Dieser Verlauf ist, wenn Rinderblut aufbewahrt wurde, die Regel gewesen, sei es, daß die Normalambozeptoren des Meerschweinchenserums entfernt worden waren oder nicht.

Versuch XXVII. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Rinderblutaufschwemmung. Meerschweinchenserum mit Rinderblut behandelt. Ambozeptor No. 2, gewöhnlicher Titer für 0,5 ccm Blut = 0,001 ccm.

Ambozeptortiter 0,0005 ccm

Ambozeptormenge	Komplementtiter
0,0005	0,02
0,001	"
0,002	"
0,005	0,01
0,01	0,008
0,02	0,006
0,05	0,005
0,1	0,008

Alle verwendeten Ambozeptoren waren sehr avid, d. h. sie wurden leicht und in großer Ausdehnung (von 200 Einheiten 190—195) gebunden. Größere Mengen, besonders von dem einen Ambozeptorserum, haben in der Regel hemmend gewirkt, d. h. geringere Hämolyse gegeben. Diese Hemmung ist von den Funktionen, welche an Blutkörperchen nicht gebunden werden, nicht oder nicht allein bedingt, weil dieselbe Erscheinung sich auch bei Benutzung sensibilisierter und gewaschener Blutkörperchen ergibt.

Versuch XXVIII. Volumen 2,5 ccm. 0,5 ccm 5-proz. Rinderblutaufschwemmung. Meerschweinchenserum unbehandelt. In Reihe 1 ist das Komplement mit dem Ambozeptorserum zugesetzt, in Reihe 2 sind die Blutkörperchen mit den angegebenen Ambozeptormengen 1 Stunde bei 37° sensibilisiert und 2mal gewaschen.

Ambozeptor-menge	Komplementtiter Reihe 1	Komplementtiter Reihe 2
0,1	0,02	0,02
0,05	"	"
0,02	0,01	0,01
0,01	0,008	0,008

Ambozeptor-menge	Komplementtiter Reihe 1	Reihe 2
0,005	0,008	0,008
0,002	"	"
0,001	"	"
0,0005	"	"
0,0002	0,05	0,05

Komplement ohne Ambozeptor		
	0,2	100
	0,1	70

Schweineblut. Die Variationsmöglichkeit ist weit geringer als mit den anderen Systemen, weil erstens meine Ambozeptoren nicht stark gewesen und zweitens Meerschweinchenserum bedeutend schwächer als Komplement wirkt. Normalambozeptoren sind in meinen Versuchen nicht nachgewiesen. Im großen ganzen sind die Versuche die gleichen.

Versuch XXIX. Volumen 1,25 ccm. 0,25 ccm 5-proz. Schweineblutaufschwemmung. Meerschweinchenserum. 0,2 ccm Komplement ohne Ambozeptor keine Hämolyse.

Komplement-menge	Ambozeptor-titer
0,1	0,005
0,07	"
0,05	"
0,03	"
0,02	> 0,1

Ambozeptor-menge	Komplement-titer
0,1	0,1
0,07	0,07
0,05	0,05
0,03	0,03
0,02	"
0,01	"
0,007	"
0,005	"
0,003	> 0,2

Gewissen Versuchen von Kiss[1]), und besonders von Scheller[2]) nach, sei der wesentliche Unterschied zwischen der Wirkungsart des Komplementes und der des Ambozeptors, daß, während letzterer seiner absoluten Menge gemäß, innerhalb weiten Grenzen von der Konzentration, mit welcher man arbeitet, unabhängig wirken würde, habe für das Komplement eigentlich die Konzentration allein Bedeutung.

---

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 3, 1909, p. 558.

2) l. c.

Kiss[1]) machte ausfindig, daß das Komplement besser wirke, je geringer das verwendete Volumen sei; Scheller[2]) gibt ferner an, zwischen Konzentration und Wirkungsvermögen eine direkte Proportionalität gefunden zu haben. In Widerspruch hierzu steht eine frühere Aeußerung von Noda[3]), welcher fand, das Komplement wirke seiner absoluten Menge, nicht der Konzentration gemäß. Nachprüfer der Schellerschen Angaben haben seine Beobachtungen nur teilweise bestätigen können. Fränkel[4]) fand, es sei wohl einiger Unterschied des Komplements in verschiedenen Verdünnungen, jedoch entspreche der Unterschied zwischen den Titres dem Verhältnisse zwischen den verschiedenen Volumen bei weitem nicht, und die beste Wirkung sei durchaus nicht in den kleinen Volumen ersichtlich. Liefmann und Cohn[5]) und Liefmann und Andreew[6]) erwähnen ebenfalls, das Komplement wirke schlechter in großer Verdünnung, fanden aber nicht so regelmäßige Verhältnisse wie Scheller. Die Wirkung des Komplements bestimmten diese Verfasser jedoch nicht durch Ablesen der Endergebnisse, sondern durch Bestimmnng der Reaktionsgeschwindigkeit. Ungermann und Kandiba[7]) äußern, die Angaben Schellers völlig beztätigen zu können, in einer späteren ausführlicheren Arbeit[8]) drücken sie sich aber vorsichtiger aus: Verdünnung übe jedenfalls einen erheblichen Einfluß auf die Wirkung des Komplements, nur in einigen ihrer Versuche ergebe sich ein Verlauf mit der Regel Schellers ganz übereinstimmend, in anderen erscheinen bedeutsnde Abweichungen.

Wie Fränkel bemerkt, vermißt man bei Scheller jede Angabe des Zeitpunktes, wann er seine Versuche abgelesen

---

1) l. c.

2) l. c.

3) Centralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 50, 1909, p. 401.

4) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 388.

5) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 8, 1911, p. 58.

6) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 355.

7) Fr. Vereinigung f. Mikrobiol., 5. Tag., Dresden 1911. Centralbl. f. Bakt., Ref., Bd. 50, Beih., 1911, p. 158.

8) Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte, Bd. 40, 1912, p. 25.

hat. Da die Reaktionsgeschwindigkeit durch Verdünnung herabgemindert wird, hat die Versuchszeit gerade eine entscheidende Bedeutung. v. Liebermann und v. Fenyvessy[1]) äußern wegen der hervorgehobenen Fermenttheorie gegen die Versuche Schellers und Liefmanns den Einwurf, die Reaktionsgeschwindigkeit und die maximale Wirkungsfähigkeit können direkt nicht verglichen werden. Ungermann und Kandiba arbeiten nicht im Wasserbad, und übrigens sind in ihren Versuchen nicht unbedeutende Abweichungen von der Schellerschen Regel ersichtlich; so ist in einer ihrer Tabellen der Titer für das Komplement in 4 ccm und 40 ccm Totalvolumen, in einer anderen in 1 ccm und 10 ccm der gleiche, während sie nach Scheller in beiden Fällen sich wie 1 : 10 verhalten sollten. Außerdem ist die Entfernung zwischen ihren einzelnen Dosen so groß, daß man nur in sehr grobem Maße ihre Ergebnisse vergleichen kann.

0,5 ccm 5-proz. 2-fach sensibilisierte Hbl.-Aufschwemmung. Ablesung nach 2 Stunden bei 37° und 20 Stunden bei 0°.

Komplement No.	Komplementtiter im Volumen			
	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm
1	0,035	0,035	0,04	0,05
2	0,026	0,026	0,026	0,04
3	0,026	0,026	0,026	0,036
4	0,025	0,03	0,06	0,1
5	0,03	0,025	0,03	0,05
6	0,025	0,03	0,06	0,1
7	0,025	0,025	0,03	0,05
8	0,025	0,025	0,04	0,05
9	0,02	0,02	0,03	0,06
10	0.025	0,02	0,04	0,08
11	0,016	0,016	0,025	0,04
12	0,016	0,016	0,025	0,05
13	0,016	0,02	0,03	0,06
14	0,016	0,013	0,025	0,04
15	0,013	0,013	0,02	0,03
16	0,013	0,016	0,02	0,03
17	0,013	0,016	0,02	0,04
18	0,016	0,016	0,016	0,05
19	0,02	0,025	0,04	0,06
20	0,016	0,016	0,025	0,05

1) Zeitschr. f. Immunitätsf., Orig., Bd. 11, 1911, p. 295.

Als ich nach der Erscheinung der Arbeit Schellers seine Versuche nachmachte, ward sogleich ersichtlich, daß mit Hammelblutkörperchen, Kaninchenambozeptoren, Meerschweinchenserum als hämolytisches System, dasselbe, dessen sich Scheller bediente, von irgendeiner Proportionalität gar keine Rede sei. Und die Resultate waren einander ganz gleich, ob ich die Blutkörperchen vorher sensibilisierte oder Blutkörperchen und Ambozeptoren getrennt hinzusetzte, ob ich das Komplement zuletzt verdünnte (wie Scheller) oder unverdünnt oder wie gewöhnlich dem verdünnten Komplement die Blutkörperchen hinzusetzte.

Vorstehende Tabelle (s. p. 529) gibt eine Uebersicht der Ergebnisse bei der Titrierung von 20 Meerschweinchenseren, teils von einzelnen Tieren, teils Mischungen der Seren mehrerer Tiere.

Der Einfluß der Verdünnung auf den Titer ist aber für die verschiedenen Komplemente nicht derselbe, jedoch ist nirgends der Unterschied so hochgradig, wie es Scheller angibt. Und der Unterschied wird noch kleiner, wenn man größere Ambozeptormengen als 2 Einheiten verwendet.

Versuch XXX. Frisches Meerschweinchenserum[1]). Ambozeptortiter 0,001 ccm, 0,5 ccm 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung.

Ambozeptor-einheiten	Komplementtiter im Volumen			
	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm
1	0,025	0,04	0,05	0,08
2	0,016	0,016	0,025	0,05
5	0,016	0,016	0,016	0,03
10	0,016	0,016	0,016	0,025

Während bei Verwendung kleinerer Ambozeptermengen der Komplementtiter in den verschiedenen Volumen recht verschieden ist, jedoch nicht in dem Maße wie es Scheller angibt, ist der Unterschied mit 10 Ambozeptoreinheiten beinahe verschwunden.

Als ich durch Untersuchungen mit konstanten Volumen ausfindig gemacht hatte, daß die Vermehrung der Ambozeptor-

1) Mehrere Versuche mit gleichem Ergebnis.

menge in jedem Falle keinen wesentlichen Einfluß auf das Endresultat hat, lag es nahe zu vermuten, daß die schlechtere Wirkung des Komplements bei größeren Verdünnungen einer herabgeminderten Reaktionsgeschwindigkeit zu verdanken sei, denn nur auf diese Weise wäre die Wirkung einer Ambozeptorvermehrung begreiflich. Daß die Reaktionsgeschwindigkeit durch Verdünnung herabgemindert wird, ist aus den folgenden Versuchen deutlich zu ersehen.

Versuch XXXI. Ambozeptortiter 0,0008 ccm. Frisches Meerschweinchenserum. 0,5 ccm 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung mit den angegebenen Ambozeptormengen gemischt, jedoch nicht gewaschen.

Ambozeptoreinheiten	Komplementtiter											
	nach $^1/_2$ Stunde bei 37° im Volumen				nach 2 Stunden bei 37° im Volumen				nach 2 Stunden bei 37° u. 20 Stunden bei 0° im Volumen			
	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm
1	0.04	0,06	0,1	0,2	0,04	0,05	0,08	0,13	0,025	0,04	0,06	0,1
2	0.04	0,05	0,08	0,13	0,025	0,03	,,	0,1	,,	0,03	,,	0,08
5	0,025	0,03	0,04	0,08	0,02	0,025	0,04	0,06	0,02	0,025	0,04	0.06
10	,,	,,	,,	0,06	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,
20	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,	,,
50	,,	0,025	,,	,,	0,025	,,	0,03	0,05	0,025	,,	0,03	0,05

Versuch XXII. Technik wie im vorigen Versuche, jedoch sind die Blutaufschwemmungen 1 Stunde bis 37° sensibilisiert und 1-mal gewaschen.

Ambozeptoreinheiten	Komplementtiter											
	nach $^1/_2$ Stunde bei 37° im Volumen				nach 2 Stunden bei 37° im Volumen				nach 2 Stunden bei 37° u. 20 Stunden bei 0° im Volumen			
	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm
1	0,05	0,05	0,08	0,16	0,025	0,025	0,06	0,1	0,025	0,025	0,04	0,06
2	0,025	0,03	0,05	0,08	0.02	0,02	0,03	0,06	0,02	0,02	0,03	0,04
5	0,02	,,	0,04	0,06	,,	,,	0,025	0,05	,,	,,	0,025	,,
10	,,	0.025	0,03	0,04	,,	,,	,,	0,04	,,	,,	,,	,,
20	0,025	0,02	,,	0,04	0,025	,,	,,	,,	,,	,,	,,	0,03

Es läßt sich aus den angeführten Versuchen (XXXI und XXXII) deutlich ersehen, daß die hämolytische Wirkung des Komplements recht bedeutend in größeren Volumen durch Verwendung größerer Ambozeptormengen vermehrt werden mag; andererseits können die größten Ambozeptormengen in den kleinsten Volumen etwas weniger Hämolyse geben. Dies kann nicht der Anwesenheit ungebundenen Ambozeptorserums zu verdanken sein, da es sich auch, wenn die Blutkörperchen nach der Sensibilisierung gewaschen, wahrnehmen läßt. Da es ferner aus den Versuchen ersichtlich war, daß die Reaktion bei Verwendung kleiner Ambozeptormengen in den größeren Verdünnungen während 2 Stunden nicht zu Ende gelaufen, versuchte ich, ob es nicht möglich wäre, beim Hinstehenlassen der Versuche längere Zeit bei 37° den Titer noch mehr herabzumindern.

Versuch XXXIII. Ambozeptortiter 0,001 ccm. In allen Röhrchen 0,5 ccm $2^1/_2$ sensibilisierte 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung. Frisches Meerschweinchenserum.

	Komplementtiter				
im Volumen	n. $^1/_4$ Std.	n. $^1/_2$ Std.	n. 1 Std.	n. 2 Std.	n. 3—5 Std.
1,25 ccm	0,025	0,025	0,025	0,025	0,025
2,5 „	0,04	„	„	„	„
5 „	0,1	0,05	0,04	0,03	„
10 „	0,2	0,1	0,08	0,06	0,04

Den Unterschied ganz zu verwischen und denselben Titer für das Komplement in allen untersuchten Verdünnungen zu erhalten, ist mir mit dieser Versuchsanordnung nie gelungen, ich habe immer ausfindig gemacht, daß die Hämolyse mit geringen Ambozeptormengen in großen Volumina nicht binnen einem Zeitraume von 2 Stunden bei 37° zu Ende gelaufen war. Wenn es nicht gelungen ist, dieselbe Wirkung des Komplementes überall zu erlangen, mag dies auf verschiedenen Umständen beruhen. Teils wird das Komplement durch Stehen bei 37°, besonders wenn verdünnt, geschwächt, teils ist bei diesen Versuchen reichliche Gelegenheit für eine sekundäre Bindung des Komplementes (methämolytische Bindung, Bail

und Suzuki[1]). Diese Bindung steigt mit der Ambozeptormenge und der Dauer der Versuchszeit (Bail und Suzuki), mit der Blutmenge und mit der Temperatur (Liefmann und Cohn[2]). Nach den zuletzt erwähnten Verfassern ist diese sekundäre Bindung bei 37° sehr ausgesprochen, bei niedriger Temperatur dagegen sehr gering. Da in diesen Versuchen Blutmenge und Temperatur unverändert sind, sind diese Punkte ohne Bedeutung; von den zwei anderen scheint die Zeit die größte Rolle zu spielen.

In bezug auf die Ambozeptoren ist aus den Versuchen zu ersehen, daß die Vermehrung der Reaktionsgeschwindigkeit, welche einer Vermehrung der Ambozeptormenge zu verdanken ist, von größerer Bedeutung sein muß als die gesteigerte Tendenz für sekundäre Bindung, welche einer größeren Ambozeptormenge folgt. Möglicherweise mag jedoch die in den kleinsten Volumina wahrgenommene Hemmung großer Ambozeptormengen auf eine unter diesen Verhältnissen stärkere sekundäre Bindung beruhen. Daß diese Hemmung mit gewissen Ambozeptoren besonders stark ist, mag darauf beruhen, daß diese komplementbindende Antistoffe in reichlicher Menge enthielten (vgl. Browning und Wilson[3]); mit den Angaben dieser Verfasser stimmen meine Beobachtungen, daß Ambozeztoren nach wenigen Injektionen gewonnen, Hemmung zu geben, weit weniger geneigt sind als Sera von Tieren, welche eine größere Anzahl Injektionen bekommen.

Da alle meine Versuche darauf hinweisen, daß die Konzentration des Komplementes zu der Reaktionsgeschwindigkeit, obschon nicht, wie erwähnt, zu der Wirkung (durch das Endresultat ausgedrückt) in direkter Relation steht, habe ich es versucht, dieses Verhältnis näher zu bestimmen.

Versuch XXXIV. Temperatur 36,5°. Das Blut und die Komplementverdünnung jede für sich auf 36,5° erwärmt. 0,5 ccm 5fach sensibilisierte, zweimal gewaschene 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung. Angegeben ist der Zeitpunkt, wo eine schwarze Stange ebenso deutlich durch das Versuchsröhrchen als durch ein Kontrollröhrchen sichtbar wurde.

---

1) Zeitschr. f. Immf., Orig., Bd. 8, 1911, p. 592.
2) l. c.
3) Journ. of Hygiene, Vol. 11, 1911, p. 208.

Totalhämolyse im Volumen							
1,25 ccm		2,5 ccm		5 ccm		10 ccm	
Kompl.	nach	Kompl.	nach	Kompl.	nach	Kompl.	nach
0,05	$2'^{10}$	0,1	$2'^{1}$	0,2	$2'^{9}$	0,4	$2'^{10}$
0,04	$2'^{20}$	0,08	$2'^{15}$	0,16	$2'^{18}$	0,3	$2'^{15}$
0,03	$2'^{35}$	0,06	$2'^{25}$	0,13	$2'^{32}$	0,25	$2'^{25}$
0,025	$2'^{50}$	0,05	$2'^{45}$	0,1	$2'^{45}$	0,2	$2'^{45}$
0,02	$3'^{20}$	0,04	$3'^{20}$	0,08	$3'^{05}$	0,16	$3'^{10}$
0,016	$3'^{50}$	0,03	$3'^{25}$	0,06	$3'^{25}$	0,13	$3'^{29}$
0,013	$4'^{20}$	0,025	$4'^{05}$	0,05	4′	0.1	$3'^{55}$
0,01	...	0,02	5′	0,04	$4'^{56}$	0,08	$4'^{35}$
.	.	0,016	$6'^{10}$	0,03	$6'^{15}$	0,06	$5'^{45}$
.	.	0,013	$7'^{45}$	0,025	$8'^{05}$	0,05	$7'^{56}$
.	.	0,01	...	0.02	$10'^{25}$	0,04	$9'^{38}$
.	.	.	.	0,016	$17'^{40}$	0,03	$16'^{35}$
.	.	.	.	0,013	40′	0,025	c. 35′
.	.	.	.	0,01	...	0,02	c. 50′
.	.	.	.	.	.	0,016	c. 120′
.	.	.	.	.	.	0,013	...

... bedeutet, daß totale Hämolyse während 4 Stunden nicht eingetreten ist.

Bei gleicher Komplementkonzentration verläuft die Hämolyse also mit gleicher Schnelligkeit, nur muß eine Korrektion eingeführt werden, die auf die durch die Versuchsdauer eintretende Abschwächung des Komplementes Rücksicht nimmt. Eine Berechnung zeigt, daß die durch die Verdünnung eingetretene Abschwächung des Komplementes der Verdünnung proportional ist. Die experimentelle Uebereinstimmung ist recht befriedigend. Um zu untersuchen, mit welcher Genauigkeit sich die Hämolysezeit bestimmen läßt, habe ich in mehreren Versuchen doppelte Messungen unternommen, wie Versuch XXXV lehrt, ist die Genauigkeit eine recht gute.

Versuch XXXV. Technik wie im vorigen Versuche.

Komplement-Konzentration	Totalhämolyse im Volumen			
	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm
4 Proz.	$1'^{58}$	$1'^{55}$	$1'^{57}$	$1'^{58}$
4 „	$1'^{57}$	$1'^{56}$	$1'^{59}$	$1'^{58}$
2 „	$2'^{32}$	$2'^{30}$	$2'^{29}$	$2'^{26}$
2 „	$2'^{38}$	$2'^{31}$	$2'^{28}$	$2'^{30}$
2 „	$2'^{33}$	$2'^{35}$	$2'^{34}$	$2'^{29}$

Infolgedessen hat sich die Behauptung Schellers, man könne denselben Ambozeptortiter in verschiedenen Volumina nur dann erhalten, wenn man sich derselben Komplementkonzentration bediene, nicht zu recht erwiesen, wie aus Versuch XXXVI hervorgeht.

Versuch XXXVI. 0,5 ccm 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung. Frisches Meerschweinchenserum. Vor der Mischung sind Blutaufschwemmung mit Ambozeptorverdünnung und das verdünnte Komplement auf 37° erwärmt.

Volumen	Komplementmenge	Ambozeptortiter nach						
		5′	10′	15′	20′	30′	60′	120′
1,25 ccm	0,01 ccm	0,004	0,003	0,002	0,0016	0,0013	0,0008	0,0006
2,5 „	0,02 „	„	„	„	„	„	0,001	„
5 „	0,04 „	„	„	„	„	„	0,0008	„
10 „	0,08 „	0,005	„	„	„	„	„	„
1,25 „	0,05 „	0,002	0,001	0,0006	0,0006	0,0006	0,0006	„
2,5 „	0,05 „	„	„	0,001	0,0008	„	„	„
5 „	0,05 „	0,005	0,003	0.002	0,0016	0,001	„	„
10 „	0,05 „	0,01	0,008	0,005	0,003	0,002	0,001	„

Im Gegensatz zu den Angaben Schellers ist also ersichtlich, daß man denselben Ambozeptortiter in verschiedenen Volumina durch Verwendung derselben absoluten Komplementmenge auch erhält (letzte Hälfte des Versuchs XXXVI); die Zeit, welche verstreicht, ehe die Reaktion zu Ende gelaufen ist, ist dagegen sehr verschieden, und das Verhältnis zwischen den Hämolysezeiten ist einigermaßen dasselbe wie zwischen den Volumina. Aus Versuch XXXVI ergibt sich daher, daß die Regel Schellers nur Gültigkeit besitzt, wenn man „während derselben Zeit“ beifügt.

Ganz ähnliche Ergebnisse wie bei Meerschweinchenserum habe ich bei Verwendung von Menschen- und Schweineseren erreicht.

Versuch XXXVII. 0,25 ccm 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung mit den angegebenen Ambozeptormengen sensibilisiert. Ambozeptoreinheit mit Meerschweinchenserum bestimmt. Als Komplement Schweineserum in der Kälte mit Hbl. behandelt, 0,5 ccm allein gibt keine Hämolyse.

Ambozeptoreinheit	Komplementtiter											
	nach 1/2 Std. bei 37°				nach 2 Std. bei 37°				nach 2 Std. bei 37° u. 18 Std. bei 0°			
	im Volumen				im Volumen				im Volumen			
	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm
1	0,04	0,05	0,06	0,08	0,03	0,03	0,04	0,06	0,02	0,025	0,03	0,05
2	0,03	0,04	0,05	0,06	0,025	0,025	0,03	0,05	"	0,02	0,02	"
5	"	0,03	0,04	0,04	0,02	0,02	"	0,04	"	"	0,025	0,04
10	0,025	0,025	0,03	"	"	"	"	"	"	"	0,03	"
20	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
50	0,04	0,03	"	"	0,04	0,03	"	"	0,04	0,03	"	"

Versuch XXXVIII. 0,5 ccm 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung mit den angegebenen Ambozeptormengen sensibilisiert. Ambozeptortiter 0,001 ccm mit Meerschweinchenserum bestimmt. Als Komplement Menschenserum (fötales Serum), 0,5 ccm allein gibt keine Hämolyse.

Ambozeptoreinheiten	Komplementtiter nach 2 Stunden bei 37° und 20 Stunden bei 0° im Volumen			
	1,25 ccm	2,5 ccm	5 ccm	10 ccm
1	0,2	0,2	0,2	0,2
2	0,1	0,1	0,13	0,2
5	0,08	0,08	0,1	0,13
10	"	"	0,08	0,1
20	0,1	"	"	0,08

Als Beweis für die Fermentnatur des Komplementes ist in den letzten Jahren mehrmals hervorgehoben, daß zwischen Komplementmenge und gelöster Blutmenge kein bestimmtes Verhältnis besteht. So gibt Scheller (l. c.) an, daß dieselbe Komplementmenge, die eben imstande ist im gegebenen Volumen eine bestimmte Blutmenge komplett zu lösen, auch während derselben Zeit eine bedeutend größere Blutmenge zu lösen vermag, wenn nur das Blut sensibilisiert ist und das Volumen unverändert bleibt. Die Blutkörperchen sollen gleichzeitig hinzugesetzt werden, weil sonst durch „methämolytische" Prozesse Komplement verbraucht wird. Andere Untersucher haben diese Angaben nur teilweise bestätigen können. Liefmann und Andreew[1]) fanden, daß die Komplementeinheit

1) l. c.

wohl mehr Blutkörperchen als die Menge, für welche sie bestimmt ist, zu lösen vermag, komplette Lösung jedoch nur von einer unbedeutend größeren Menge hervorrufen kann. Von steigenden Blutmengen wird absolut mehr, relativ weniger gelöst. Dasselbe Ergebnis gibt Sachs[1]) an (nicht veröffentlichte Untersuchungen von Conradi). v. Liebermann und v. Fenyvessy[2]) machen hiergegen den Einwand, „Titer“ sei nur ein Maß der Reaktionsgeschwindigkeit, und vermuten, der Ausfall der Versuche mit wechselnden Blutmengen bei der verschiedenen Resistenz der Butkörperchen zu verdanken (Dienes[3]), vgl. Ruszniak[4]), Snapper[5]). Sie zeigten ferner, daß verschiedene Komplemente gleiche Verhältnisse nicht darbieten, so löst Kaninchenkomplement auch absolut weniger von großen Blutmengen.

Im großen ganzen haben meine Versuche dasselbe Resultat ergeben, wie die anderer Untersucher. Der für eine bestimmte Blutmenge gefundene Komplementtiter hat nur ein wenig größere Blutmengen (maximal die doppelte Menge) komplett zu lösen vermocht, und je weniger, je genauer der Titer bestimmt war. Von steigenden Blutmengen hat eine gegebene Komplementmenge am häufigsten absolut mehr, relativ aber weniger gelöst, in einigen Versuchen ist jedoch bei Verwendung kleiner Komplementmengen auch absolut weniger gelöst worden. Die von größeren Blutmengen relativ gelöste Menge variiert in den einzelnen Versuchen bedeutend, was mir für die Richtigkeit der v. Liebermann und v. Fenyvessy gegebenen Erläuterung zu sprechen scheint. Daß die Komplementmenge in Relation zu der Blutmenge nicht gleichgültig ist, sieht man auch deutlich, wenn man (in demselben Volumen) den Ambozeptortiter für verschiedene Blutmengen bestimmt (Versuch XL).

Versuch XXXIX. Volumen 2,5 ccm. Als Komplement Meerschweinchenserum, Titer für 0,1 ccm 5-proz. Hbl.-Aufschwemmung =

---

1) Kolle und Wassermann, Handb. II. Aufl., 1913.
2) Zeitschr. f. Imunitätsf., Orig., Bd. 2, 1911, p. 295.
3) Biochem. Zeitschr., Bd. 33, 1911, p. 268.
4) Biochem. Zeitschr., Bd. 36, 1911, p. 394.
5) Biochem. Zeitschr., Bd. 43, 1912, p. 256.

0,01 ccm. Ambozeptortiter 0,0008 ccm. Das Blut 1 Stunde bei 37° sensibilisiert, 1-mal gewaschen als 25-proz. Aufschwemmung zugesetzt.

Komplement	5-proz. Hbl.	Davon gelöst
0,01	0,1	0,1 ccm = 100 Proz.
	0,2	0,19 „ = 95 „
	0,5	0,44 „ = 88 „
	1,0	0,8 „ = 80 „
	2,0	1,05 „ = 52,5 „
	5,0	1,33 „ = 26,6 „
	10,0	1,8 „ = 18 „

Versuch XL. Volumen 5 ccm. Meerschweinchenserum mit Hbl. behandelt; 0,2 ccm allein keine Hämolyse. Die Blutkörperchen, zuletzt überall auf 2 ccm aufgefüllt, hinzugesetzt.

5-proz. Hbl.-Aufschwemmung	Ambozeptortiter mit		
	0,05 Komplement	0,1 Komplement	0,2 Komplement
2 ccm	> 0,1	> 0,1	0,004
1 „	> 0,1	0,0016	0,0016
0,5 „	0,0008	0,0008	0,0008
0,25 „	0,0004	0,0004	0,0004
0,125 „	0,0002	0,0002	0,0002

Zusammenfassung.

Bei Verwendung frischer Hammelblutkörperchen und frischen Meerschweinchenserums sind Komplementtiter und -wirkung innerhalb recht weiter Grenzen von der verwendeten Ambozeptormenge wenig abhängig, vorausgesetzt, daß diese, um Totalhämolyse zu geben, hinreichend ist. Umgekehrt sind Ambozeptortiter und -wirkung von der Komplementmenge wenig abhängig, vorausgesetzt, daß hinlängliche Menge, um Totalhämolyse hervorzurufen, verwendet wird.

Bei Verwendung großer Ambozeptormengen (mehr als 20 Einheiten) sind die Verhältnisse etwas verschieden; alle stärkeren Ambozeptoren haben selbst in einer Menge bis zu 200 Einheiten nur geringen Einfluß auf die Komplementwirkung gehabt, dagegen bewirken die schwächeren Ambozeptoren in größeren Dosen eine Hemmung der Hämolyse. Von den untersuchten Ambozeptoren haben 6 eine ganz andere Wirkung ergeben, indem sie in größeren Mengen allein Hämolyse hervorriefen, wahrscheinlich, weil das Komplement nicht genügend destruiert war.

Bei Aufbewahrung nimmt die Resistenz der Blutkörperchen ab, schneller beim Lagern als 5-proz. Aufschwemmung, als soweit möglich von Kochsalzlösung befreit. Herabgeminderte Resistenz zeigt sich zuerst in einer Steigerung des Ambozeptortiters. Erst nachdem diese stattgefunden hat, wird die Komplementwirkung von der Ambozeptormenge abhängig.

Beim Lagern mit Ambozeptor wird die Resistenz der Blutkörperchen bedeutend herabgemindert.

Die Resistenz ist dagegen nicht nachweisbar davon abhängig, ob die Blutkörperchen einmal oder mehrere Male gewaschen werden und ob sie aus durch Schütteln defibriniertem Blute oder aus in Citrat- oder Oxalatlösung aufgenommenem Blute gewonnen sind.

Die Wirkung aufbewahrten Komplementes ist ebenfalls von der Ambozeptormenge in weit höherem Maße als die frischen Komplementes abhängig. Diese Veränderung des Komplementes ergibt sich, sei es daß Meerschweinchenserum mit dem Gemisch oder von diesem getrennt aufbewahrt worden ist, und bei höheren Temperaturen schneller als bei niedrigeren.

Weder in Ambozeptoren noch in Meerschweinchenserum ist es gelungen, individuelle Verschiedenheiten von einiger praktischen Bedeutung in dem von Scheller angegebenen Sinne nachzuweisen. Dagegen hat sich eine Verschiedenheit in der Schnelligkeit, mit welcher die Ambozeptoren hämolysieren und gebunden werden, gefunden.

Bei Verwendung von Rinderblutkörperchen ergeben sich die nämlichen Verhältnisse wie mit Hammelblutkörperchen, doch haben frische (d. h. eben von der Schlächterei empfangene) Blutkörperchen bisweilen herabgeminderte Resistenz aufgewiesen.

Auch im hämolytischen System mit Schweineblutkörperchen hat eine Vermehrung der Ambozeptormenge es nicht vermocht, die für Totalhämolyse erforderliche Komplementmenge herabzumindern.

Die Komplementwirkung, durch das Endergebnis gemessen, ist in Widerspruch zu den Angaben Schellers von der ab-

soluten Menge, nicht von der Konzentration wesentlich bestimmt. Dagegen ergibt sich eine bestimmte Relation zwischen Hämolysegeschwindigkeit und Komplementkonzentration, indem das Verhältnis zwischen den Komplementmengen, welche in verschiedenen Volumen mit derselben Geschwindigkeit hämolysieren, mit dem Verhältnis zwischen den verwendeten Volumen proportional ist, d. h. bei gleicher Komplementkonzentration verläuft die Hämolyse mit gleicher Geschwindigkeit.

In Widerspruch zu den Angaben Schellers vermögen Komplementtiterdosen eine nur wenig größere Blutmenge als diejenige, für welche der Titer bestimmt ist, komplett zu lösen. Von hinaufsteigenden Blutmengen löst eine bestimmte Komplementmenge am häufigsten absolut größere, relativ aber kleinere Mengen.

[Aus der Medizinischen Klinik I des Karolinischen Instituts in Stockholm (Direktor: Prof. Israel Holmgren).]

Untersuchungen über die Spezifität der Graviditätsreaktion mit Hilfe des Abderhaldenschen Dialysierverfahrens und einer Modifikation dieser Methode.

Von Dr. med. **Folke Lindstedt.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 11. September 1915.)

Die Abderhaldensche Lehre von den sogenannten Abwehrfermenten gründet sich, wie bekannt, auf die sogenannte Graviditätsreaktion oder den Nachweis des spezifischen, gegen Placenta gerichteten proteolytischen Ferments im Serum bei Schwangeren. Die bisher publizierten Untersuchungen scheinen auch zum größten Teil für die Spezifität der Graviditätsreaktion zu sprechen. Vielen Verfassern ist es bei ihren Untersuchungen mit der Abderhaldenschen Dialysiermethode jedoch nicht gelungen, spezifische Graviditätsreaktionen zu erhalten, was

nach Abderhaldens Erklärung darauf beruhen soll, daß diese Verfasser die genannte Methode nicht genügend beherrschten. In Anbetracht der außerordentlich schweren Technik scheint ein solcher Erklärungsgrund annehmbar zu sein; Abderhalden hat auch in vielen Fällen in der Methodik dieser Forscher Mängel nachweisen können.

Als ein Kriterium, daß die Technik der Dialysiermethode völlig beherrscht wird, fordert Abderhalden, daß es jedem Forscher glücken soll, mit dieser Methode mit einer Anzahl Graviditätsreaktionen annähernd 100 Proz. spezifische Resultate zu erhalten (d. h. positive Reaktion bei Schwangeren; negative bei Nicht-Schwangeren). Eine solche Forderung setzt natürlicherweise voraus, daß die Spezifität bei der Graviditätsreaktion unwidersprechlich bewiesen ist. Nach den Arbeiten, die in letzter Zeit von Flatow, Lange, Oeller und Stephan, sowie von Kjærgaard publiziert worden sind, kann jedoch keineswegs gesagt werden, daß dies der Fall ist. Aber auch nach den recht scharfen Angriffen dieser Verfasser gegen Abderhaldens Lehre, besonders von der Spezifität der Graviditätsreaktion, bekommt man dennoch aus der Literatur im ganzen die Auffassung, daß diese Lehre, wenigstens in der Hauptsache, richtig ist.

Die Entscheidung, ob oder in welchem Grade im Serum von Schwangeren spezifisches, gegen Placenta gerichtetes proteolytisches Ferment wirklich vorkommt, ist also auch jetzt die Aufgabe, die zuerst gelöst werden muß, ehe auf dem in Frage stehenden Gebiet weitergeforscht werden kann.

Seit Anfang 1914 war ich während 15 Monate damit beschäftigt, die Graviditätsreaktion mit der von Abderhalden angegebenen Dialysiermethode zu prüfen. Anfänglich arbeitete ich hierbei zusammen mit Dr. Th. Hedborg, der während einer kürzeren Zeit die Methode bei Professor Abderhalden in Halle selbst studiert hatte. Leider mußte Dr. Hedborg wegen Krankheit die Arbeit bald abbrechen; für die mir geleistete Hilfe bitte ich ihm hier meinen warm empfundenen Dank abstatten zu dürfen. Auch ich reiste später (Juli 1914) nach Halle, wo ich während eines Monats an Abderhaldens Physiologischem Institut Gelegenheit hatte, mich mit allen Details der Technik vertraut zu machen. Trotz mehr als einjähriger fleißiger Arbeit glückte es mir jedoch nicht, mit der Dialysiermethode durchgehends spezifische Graviditätsreaktionen zu erhalten; ebensowenig wurden meine Resultate nach der Rückkehr aus Halle in irgendeiner Weise besser als zu Anfang.

Ich habe mit dieser Methode im ganzen 507 Dialysierversuche (größtenteils Graviditätsreaktionen) an 98 verschiedenen Sera ausgeführt; außerdem eine große Menge Versuche, um auf verschiedene Weise die Durchlässigkeit der Dialysierungshülsen zu prüfen. Von dem in Frage stehenden Material bestand $^1/_3$ aus Schwangeren, der Rest aus Nicht-Schwangeren. Ungefähr $^3/_4$ der Schwangeren gaben positive, $^1/_4$ negative Graviditätsreaktion; von den Nicht-Schwangeren gaben $^3/_5$ negative und $^2/_5$ positive Graviditätsreaktion. Die meisten positiven Reaktionen waren, wenn auch deutlich, doch recht schwach; die positiven Reaktionen bei den Schwangeren im allgemeinen stärker als bei den Nicht-Schwangeren.

Meine Resultate zeigen sonach eine erhebliche Menge (etwa 33 Proz.) unspezifische Reaktionen. Es liegt hier natürlich die Annahme am nächsten, den Grund hierfür darin zu suchen, daß, trotzdem ich aufs sorgfältigste alle Vorschriften Abderhaldens betreffs der Methodik zu befolgen versuchte, dies mir dennoch nicht geglückt ist. Das dürfte, nach so langer Uebung und nach vierwöchigem Laborieren an Abderhaldens eigenem Institut, allerdings schwerlich der Fall sein können.

Während meiner Versuche, Fehlerquellen zu entdecken, die meine unspezifischen Resultate erklären könnten, kam ich dahin, in immer größerer Ausdehnung mehrere Kontroll- und Parallelproben anzuwenden, wobei natürlicherweise recht große Blutproben entnommen werden mußten (50—100 ccm). Hierbei zeigte es sich, daß die Parallelproben untereinander nicht selten Ungleichheiten aufwiesen, welche Differenzen gewöhnlich nur als auf Ungleichförmigkeiten in der Durchlässigkeit der Hülsen beruhend erklärt werden konnten. Die Hülsen waren jedoch nach Abderhaldens Vorschriften sorgfältig auf gleichförmige Durchlässigkeit geprüft.

Abderhalden schreibt vor, daß bei dieser Prüfung jeder Hülse 5 ccm 1-proz. Seidenpeptonlösung zugesetzt werden soll (nach einer späteren Vorschrift $^1/_2$-proz.). Nach 16-stündiger Dialyse im Thermostat wird das Dialysat hierauf in gewöhnlicher Weise mit Ninhydrinlösung geprüft. Hierbei werden, was auch andere Verfasser hervorgehoben haben, die Farbenreaktionen jedoch so stark, daß sich nur ziemlich grobe Ungleichförmigkeiten zwischen den verschiedenen Hülsen zu erkennen geben. Einige

Verfasser (Kjærgaard, Lampé u. a. m.) haben sich deshalb bei fraglicher Prüfung schwächerer Peptonlösungen bedient; Lange schlägt Anwendung von 2,5 ccm 0,2-proz. Peptonlösung vor. Derselbe Verfasser deutet mit Recht an, daß, da das von Abderhalden vorgeschriebene Kochen der Hülsen deren Durchlässigkeitsvermögen vermindert, und da verschiedene Hülsen verschieden viele Male angewandt und sonach gekocht worden sein können, diese nach einiger Zeit wieder ungleichförmig werden. Die Hülsenprüfung muß deshalb oft erneuert werden, wenn möglich vor jedem neuen Versuch.

Zahlreiche Versuche haben mich jedoch davon überzeugt, daß auch bei Versuchen, die unmittelbar nach einer solchen schärferen Prüfung angestellt wurden, die Parallelproben untereinander dennoch verschiedene Resultate aufweisen können. Da alle Möglichkeiten anderer Fehlerquellen ausgeschlossen werden konnten, wurde es mir klar, daß die Verschiedenheit zwischen den Parallelproben auch in diesen Fällen durch die Hülsen bedingt sein mußte. Zahlreiche Versuche haben mich nämlich überzeugt, daß auch bei Anwendung der erwähnten verbesserten Prüfung der Hülsen bei diesen dennoch hinreichend Ungleichheiten aufzufinden sind, um alle Ungleichheiten bei den Parallelproben zu erklären.

Erstens wird bei der eigentlichen Dialysierprobe nur der unterste Kubikzentimeter der Hülse angewandt, während man die 5 (oder $2^1/_2$) untersten Kubikzentimeter prüft. Das spielt eine um so größere Rolle, als der ganze Boden der Hülse, den oberhalb liegenden Seitenteilen gegenüber, immer von makroskopisch deutlich verschiedener Konsistenz und Dicke ist. Des weiteren wird 16 Stunden dialysiert, während die Gleichgewichtslage bei der Dialyse gewöhnlich in kürzerer Zeit erreicht wird. Die Zeit zur Erreichung der Gleichgewichtslage, die je nach der verschiedenen Beschaffenheit der Hülsen verschieden ist, kann, wenn sie sich nur unter einer Zeit von 16 Stunden hält, so viel sie will variieren, ohne daß bei der Schlußprobe irgendwelche Verschiedenheit bemerkt wird. Schließlich ist es unwahrscheinlich, daß alle dialysablen Zerfallsprodukte von Placentaeiweiß ebenso leicht dialysabel sind wie das Seidenpepton. Die Richtigkeit dieser Vermutungen wurde auch durch eine Menge von Versuchen bestätigt. Prüft man nämlich sogenannte gleichförmige Hülsen unter Anwendung von kürzerer Dialysenzeit, z. B. 2—4 Stunden, mit nur 1 ccm Seidenpeptonlösung, oder noch besser mit 1 ccm Serum, enthaltend Eiweißzerfallsprodukte (z. B. Schwangerenserum nach Digestion mit Placenta), so wird man oft zwischen den Hülsen verblüffende Differenzen finden, und diese Differenzen erweisen sich auch parallel mit den oben berührten Ungleichheiten zwischen den verschiedenen Parallelproben bei der gewöhnlichen Dialysiermethode.

Diese Umstände zeigen meines Erachtens, daß trotz sorgfältigster Prüfung der Hülsen nach Abderhaldens Vorschriften große Möglichkeiten vorhanden sind, daß die gut befundenen Hülsen dennoch so ungleichförmig sind, daß bei Beurteilung der Proben hierdurch oft wesentliche Fehler entstehen können.

Hiermit will ich nicht sagen, daß es sich immer so verhält. Wahrscheinlich sind die Hülsen in verschiedenen Sendungen von verschiedener Qualität, und es ist denkbar, daß gute Hülsen trotz unzulänglicher Prüfung gleichförmig und verwendbar sind. Sicher ist, daß mehrere meiner Hülsen, die nach der gewöhnlich vorgeschriebenen Prüfung als gleichförmig angesehen werden mußten, bei der oben erwähnten empfindlicheren Prüfungsmethode so große Ungleichheiten zeigten, daß ich weitere Versuche mit diesen Hülsen für zwecklos ansah. Es ist möglich, daß die Ungleichheiten bei meinen Hülsen dadurch verursacht wurden, daß verschiedene Hülsen verschieden oft gekocht worden sind. Jedenfalls waren diese Hülsen nach der gewöhnlichen Prüfung völlig gleichförmig.

Der hier angedeutete Mangel in Abderhaldens Vorschriften über die Hülsenprüfungen ist um so bemerkenswerter, als diese Vorschriften in mehreren anderen, wie es mir scheint, relativ unwesentlichen Punkten insofern übertrieben streng erscheinen, daß sie eine unrichtige Vorstellung bei Beurteilung der wirklichen Ursachen von schlechten Resultaten geben. So verhält es sich z. B. mit dem umständlichen Abspülen der Hülsen mit sterilem destillierten Wasser; dem Verbot, in Laboratorien zu arbeiten, die für bakteriologische Zwecke angewandt werden; der Anwendung von ausgekochten Kochstäben bei Anstellung der Ninhydrinprobe; dem Verbot des geringsten Versuchs, das Blutkoagulat von der Wand des Gefäßes zu lösen, usw. Ich will gar nicht verneinen, daß grobe Verstöße gegen diese Vorschriften Anlaß zu Fehlresultaten geben können; die Erfahrung mit vielen Parallelversuchen hat mich jedoch gelehrt, daß das äußerst selten der Fall ist, und daß eine Ungleichheit zwischen zwei

identischen Parallelproben fast immer durch Ungleichheit der Hülsen bedingt wird.

Es ist denkbar, daß die hier angeführten Umstände, wenn Abderhaldens Theorie von den spezifischen Abwehrfermenten richtig ist, viele von den unspezifischen Resultaten erklären können, die viele Verfasser trotz sorgfältiger Beachtung aller Vorschriften erhielten. Unter diesen Umständen die äußerst günstigen Resultate der meisten Verfasser zu erklären, wird hierdurch zwar schwerer, aber doch nicht unmöglich.

Trotz der Unsicherheit betreffs des gleichmäßigen Durchlässigkeitsvermögens bei meinen Hülsen sprechen meines Erachtens meine Untersuchungen mit der Dialysiermethode im ganzen dennoch in der Richtung, daß ein Unterschied zwischen Serum von Schwangeren und Nicht-Schwangeren wenigstens insofern besteht, daß Serum von Schwangeren im allgemeinen größeres proteolytisches Vermögen gegen Placenta-Eiweiß hat, als Serum von Nicht-Schwangeren. Sie sprechen, wie auch Kjærgaards Untersuchungen, jedenfalls gegen Michaelis' und Flatows Behauptungen, daß sich Serum von Schwangeren und Serum von Nicht-Schwangeren in keinerlei Beziehung unterscheidet.

Die Dialysiermethode, in der von Abderhalden vorgeschriebenen Form, leidet auch in anderer Hinsicht an einem Fehler. Dieser Fehler, den ich in der Literatur nicht hinreichend beachtet gefunden habe, besteht darin, daß die Reaktion nicht genügend empfindlich ist, wenn es geringe Fermentmengen nachzuweisen gilt[1]). Die Konzentrationsverhältnisse beim Dialysat und Ninhydrin bei der Endprobe erlauben nämlich nur dann den Nachweis von Eiweißzerfallprodukten, wenn deren Menge eine gewisse Grenze übersteigt. Die Konzentrationsverhältnisse sind ja von Abderhalden absichtlich so gewählt, daß die Kontrollproben, die doch stets eine bei verschiedenen Sera bedeutend variierende Menge von ninhydrinpositiven Substanzen enthalten, im allgemeinen ne-

---

1) Die Methode muß ja so empfindlich wie möglich sein, denn auch sehr kleine Fermentmengen sind nach Abderhalden spezifisch und von spezifischen blutfremden Substraten hervorgerufen.

gativ ausfallen sollen. Bei Digestion mit Serum + Organ wird positive Reaktion nur erhalten, wenn der durch den fermentativen Zerfall des Organs bedingte Zuwachs groß genug ist, damit die minimale Reaktionsgrenze überschritten wird. Wenn jedoch die durch Fermentzerfall entstehende Zunahme an ninhydrinpositiver Substanz relativ klein ist, und besonders wenn gleichzeitig der Gehalt des Kontrollserums an ninhydrinpositiven Substanzen sehr gering ist, muß sowohl die Kontroll- als die Hauptprobe negativ reagieren können, trotzdem Fermentzerfall stattgefunden hat. Es versteht sich von selbst, daß in dieser Hinsicht die sogenannte Vordialyse, bei welcher der eigene Gehalt des Serums an ninhydrinreagierenden Substanzen entfernt wird, dazu geeignet ist, dieses Mißverhältnis zu vermehren. Daß infolge dieser Verhältnisse viele in Wirklichkeit positive Reaktionen übersehen werden können, liegt klar auf der Hand.

Ein anderer Uebelstand bei der gewöhnlichen Dialysiermethode ist die Infektionsgefahr, die in dem Arbeiten mit den nassen und leicht absorbierenden Hülsen liegt. Ein jeder, der mit ihnen gearbeitet hat, weiß, wie schwer es ist, sie ordentlich zu reinigen, und wie leicht alles an denselben adhäriert, was, wie bekannt, Ungelegenheiten beim Hinabführen des Organs verursacht. Daß diese Hülsen einige Augenblicke gekocht und nach dem Ansetzen des Versuchs schnell in steril destilliertem Wasser abgespült werden, ist keine sichere Garantie gegen Infektion, besonders da der Hülseninhalt, der ein sehr günstiger Boden für Bakterien ist, nachher 16 Stunden im Thermostat bei 37° digeriert werden soll.

Die Fehler, welche auf Grund der erwähnten Umstände bei Anwendung der von Abderhalden vorgeschriebenen Dialysiermethode leicht entstehen können, glaube ich durch Anwendung einer auf folgende Weise modifizierten Dialysiermethode wenigstens zum großen Teil eliminiert zu haben.

An Stelle der gewöhnlichen habe ich aus Kollodium gefertigte Hülsen angewandt, welches Material bereits oft bei chemischen Untersuchungen zur Darstellung von Dialysiermembran angewandt worden ist. Bei der Herstellgung

habe ich hauptsächlich Pregls Vorschriften befolgt. Diese Hülsen besitzen vor den gewöhnlichen den Vorzug, daß sie für Eiweißzerfallprodukte viel leichter durchlässig gemacht werden können, und daß es nicht so große Schwierigkeiten bereitet, gleichförmige Hülsen zu erhalten. Ferner sind sie ihrer dünnen, glatten Wände wegen leichter zu reinigen und können durch Aufbewahrung in 65-proz. Alkohol leicht steril gehalten werden[1]).

Bei Anwendung der Dialysiermethode nach meinem modifizierten Verfahren erfolgt die Dialyse in den Hülsen nach und unabhängig von der Digestion. Mit den sehr durchlässigen Kollodiumhülsen kann nämlich die Dialyse in relativ kurzer Zeit (1 Stunde) beendigt werden. Bei Anstellung der Digestionsprobe verfährt man folgendermaßen:

Zuerst werden Serum und Placenta in sterilen Proberöhren oder Zentrifugenröhren gemischt; darauf erfolgt in gewöhnlicher Weise Zusatz von Toluol (ist nicht notwendig, da die Röhren statt dessen ohne Infektionsgefahr zugekorkt werden können). In analoger Weise wird mit den Kontrollproben verfahren (Serum allein oder inaktiviertes Serum + Organ). Die Röhren werden danach zur Digestion 16 Stunden in den Thermostaten (37°) gestellt.

Wenn die Digestion beendet ist, wird zur Dialyse übergegangen.

Vom Boden der Digestionsröhren wird mit völlig reinen 1 ccm-Pipetten Serum heraufgeholt. Hierbei folgen keine gröberen Bestandteile vom Organ mit. Danach ist es leicht, 1 ccm der digerierten Serummischung in die Kollodiumhülsen hinabzuführen, ohne daß deren Außenwand verunreinigt zu werden braucht. Die Hülse wird in ein gewöhnliches reines Spitzglas gebracht, in welchem danach gegen 4 ccm Wasser in Zimmer-

---

1) Beim Studium der Abwehrfermente sind solche Hülsen früher von de Crinis angewendet worden. Dieser Verfasser, der durchgehends spezifische Resultate erhielt, hat die Digestion resp. Dialyse bei Zimmertemperatur statt im Thermostat erfolgen lassen [die Kollodiumhülsen werden nämlich nach Pregl eiweißdurchlässig, wenn sie die vorgeschriebene Zeit (16 Stunden) im Thermostat (37°) stehenbleiben]. Können bei Anwendung von Abderhaldens Vorschriften geringe Fermentmengen übersehen werden, so ist das natürlich noch mehr der Fall, wenn die Fermentwirkung durch Anwendung von Zimmertemperatur abgeschwächt wird. Im übrigen hat de Crinis genau Abderhaldens Vorschriften befolgt.

temperatur dialysiert wird. (Nach Lange ist physiologische Kochsalzlösung als Dialysierflüssigkeit geeigneter. Das habe ich nicht erprobt, da ich zur Zeit meiner Versuche von Langes Arbeit keine Kenntnis hatte.) Dialysiert wird 1 Stunde (auch kürzere Zeit ist hinlänglich). Wird die Dialysenzeit bedeutend über 1 Stunde ausgedehnt, so können osmotische Phänomene störend einwirken; so ist nach 16-stündiger Dialyse beinahe die ganze Dialysenflüssigkeit in die Hülse eingesaugt. (Aus diesem Grunde erachte ich es für unmöglich, daß Ungleichmäßigkeiten in der Konzentration der Dialysatflüssigkeiten in de Crinis Versuchen übersehen werden können.)

Nach einstündiger Dialyse wird an der ganzen Dialysatflüssigkeit, die nur direkt in die Reagenzgläser hinübergegossen zu werden braucht, die Ninhydrinprobe angestellt.

Zur Ninhydrinprobe habe ich im allgemeinen 0,2 ccm 1/3-proz. Ninhydrinlösung angewandt. Bei der Kochprobe mit Ninhydrin habe ich der geringen Flüssigkeitsquantität wegen die Kochdauer auf 1/2 Minute beschränkt. Kochstäbe brauchen hierbei nicht angewendet zu werden.

Die gleichförmige Durchlässigkeit der Hülsen wird z. B. 40 Minuten mit 1 ccm Serum geprüft, das Eiweißzerfallprodukte enthält (erhalten z. B. durch Digestion mit Placenta).

Durch dieses Verfahren werden die Fehler, die sonst durch ungleichförmige Hülsen bedingt werden können, wesentlich reduziert. Eine perforierte oder allzuleicht durchlässige Hülse gibt sich bei der Dialyse sofort dadurch zu erkennen, daß die Flüssigkeitsmenge in dieser Hülse schneller als in den übrigen steigt. Nur in solchen Fällen erfolgt mitunter Eiweißreaktion (Spiegler) im Dialysat. Da die Dialyse nur eine Stunde in Anspruch nimmt, kann man, wenn man so will, Dialyse der Kontroll- und Hauptprobe nacheinander in derselben Hülse vornehmen. Bei der Schlußreaktion wird die Konzentration ninhydrinreagierender Substanzen wesentlich größer als bei dem von Abderhalden vorgeschriebenen Verfahren. Hierdurch kann mit der Ninhydrinprobe die Anwesenheit bedeutend kleinerer Mengen ninhydrinpositiver Substanzen, sowohl in der Kontroll- als auch in der Hauptprobe, nachgewiesen werden, wodurch auch geringere Fermentmengen nachweisbar sein müssen, als dies der Fall ist, wenn Abderhaldens Vorschriften befolgt werden. Auch erhält die Flüssigkeit fast immer (siehe Tabelle)

eine schwache positive Reaktion, auch für 1 ccm Serum allein, was ich im Gegensatz zu Abderhalden für einen großen Vorteil halte, da man ja hierdurch leichter den wirklichen Unterschied zwischen der Kontroll- und der Hauptprobe beurteilen kann.

Dadurch, daß die Digestion unabhängig von der Dialyse in sterilen Glasröhren vorgenommen wird, gewinnt man natürlich auch eine wesentlich erhöhte Garantie gegen Infektion. Auch wenn später bei der Dialyse Infektion von den Hülsen erfolgen sollte, so ist das von geringerer Bedeutung, da die Dialyse bei Zimmertemperatur nur eine Stunde dauert. Die bei der Dialyse zur Anwendung kommenden Utensilien brauchen deshalb nicht notwendig steril zu sein, sondern nur rein. Nach meiner Erfahrung wird das ganze Verfahren, abgesehen vom getrennten Anstellen der Digestions- und Dialysierprobe, viel einfacher und sicherer. Ein anderer Vorteil ist der, daß ein und dieselbe Digestionsröhre eine hinreichende Menge Serum + Organ enthalten kann, um für mehrere vollauf identische Parallelproben bei der Dialyse zu reichen; bei der gewöhnlichen Dialysiermethode nach Abderhalden werden Parallelproben mit Organ niemals völlig identisch, weil dieselbe Portion Organ nicht zu mehr als einer Probe angewendet werden kann. Wenn man so will, kann man das Organ vor Anstellen der Dialyse auspressen, in welchem Fall natürlicherweise dasselbe auch mit der Kontrollprobe geschehen muß. Versuche haben ergeben, daß hierbei die Schlußreaktion stärker wird.

Mit den oben beschriebenen Modifikationen habe ich mit der Dialysiermethode gegen 300 Versuche an mehr als 60 verschiedenen Sera angestellt. Von diesen waren mehr als $^4/_5$ Nicht-Schwangere. Die meisten dieser Versuche sind Graviditätsreaktionen. Im allgemeinen wurden von derselben Digestionsröhre mindestens zwei Paralleldialysen als Kontrollen angestellt.

Alle diese Versuche haben übereinstimmende Resultate ergeben. Sie sprechen meines Erachtens unzweideutig dafür, daß sich in allen Sera, sowohl von Schwangeren als von Nicht-Schwangeren, proteolytisches Fer-

ment (im Sinne Abderhaldens) gegen Placentaeiweiß findet, welches deutlich nachweisbar ist, auch wenn die Digestionszeit nicht länger als 16 Stunden ausgedehnt wird[1]). Hierbei ist zu beachten, daß die Reaktionen in so gut wie allen Fällen mit Serum + Placenta, im Verhältnis zu den Reaktionen mit den Kontrollproben, so deutlich waren, daß nicht der geringste Zweifel bei der Beurteilung aufkommen konnte. Eine Vorstellung hierüber gibt die nebenstehende Tabelle, in der Untersuchungen über 20 Fälle zusammengestellt sind. Diese Fälle sind absichtlich für die Tabelle gewählt, um eine proportionale Anzahl Schwangere und Nicht-Schwangere, Gesunde und auf verschiedene Weise Kranke, Nüchterne und Nicht-Nüchterne zu bekommen; betreffs des deutlichen positiven Ausfalles der Reaktionen zeigen auch die nicht angeführten Versuche dieselben Resultate.

Inwiefern Serum von Schwangeren stärker als Serum von Nicht-Schwangeren reagierte, kann ich an der Hand dieser Versuche nicht entscheiden, da außer Gravidensera auch eine Menge anderer Sera maximale, d. h. so starke Ninhydrinreaktion (++++) gaben, daß ein Unterschied zwischen diesen nicht sicher konstatiert werden konnte.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, gaben auch die Kontrollen in der Mehrzahl eine schwach positive Ninhydrinreaktion; wie gesagt, konnten die wirklichen Unterschiede zwischen diesen und den Hauptproben hierdurch leichter beurteilt werden.

Schließlich will ich noch andeuten, daß ich meines Erachtens die Fehlerquellen ausgeschlossen habe, die man gewöhnlich als Ursache für das Erhalten von unspezifischen Reaktionen hervorzuheben pflegt.

Als Ursache für „schlechte" Resultate pflegt man ja oft anzuführen, daß die Organe durch Kochen nicht hinreichend von ninhydrinpositiven Substanzen befreit waren. Hiergegen möchte ich erwähnen, daß ich viele verschiedene Placenten angewendet habe, alle nach Abderhaldens Vor-

1) Auch die Versuche, die mit kürzerer Digestionszeit, z. B. 12 Stunden, angestellt wurden, haben deutlich positive Reaktionen auf Ferment gegeben.

Tabelle[1]).

Name und Geschlecht	Diagnose		1 ccm inaktives Serum	inaktives Serum + Plac.	aktives Serum	aktives Serum + Plac.
G. A., ♀	Gravida m. V.	n.	((+)) .	(+) .	— .	++++ ++++
L. L., ♂	Gesund	n.	. .	. .	((+)) (+)	++(+) +++
M. P., ♀	Gravida m. IV.	n.	.	.	+	++++
A. P., ♂	Angina phlegmonosa	n.	(+) (+)	+ (+)	(+) (+)	+++ ++++
A. A., ♂	Haemorrhagia cerebri		(+) +	+(+) +(+)	(+) (+)	+++(+) +++(+)
A. J., ♀	Erythema induratum	n.	+ +	+(+) +(+)	(+) (+)	++(+) ++(+)
A. S., ♀	Gravida m. VI.		. .	. .	— —	++++ ++++
S. E., ♀	24 Tage nach Partus		. .	. .	++ +(+)	++++ ++++
G. J., ♂	Nephrosklerose		((+)) .	+ (+)	. .	++ ++(+)
O. N., ♂	Arthritis urica		. .	(+) (+)	. .	+++ +++(+)
E. A., ♀	Gesund; 2 Wochen nach der letzten Mens		. .	((+)) ((+))	— —	+(+) ++
J. J., ♂	Lues hepatis	n.	((+)) .	(+) +	((+)) .	++++ ++++
L. N., ♀	Erysipelas		((+)) (+)	++ ++	+ +	++++ ++++
O. N., ♂	Gesund	n.	—	—	((+))	++++
A. A., ♀	Nephritis		(+) .	— —	(+) (+)	++(+) ++(+)
A. L., ♂	Aethylismus	n.	(+) .	+ .	(+) .	+++(+) ++++
M. S., ♂	Nephritis interstit.		(+) (+)	. .	(+) (+)	++++ ++++
A. E., ♀	Gravida m. III.		. .	. .	. ((+))	++++ ++++
K. B., ♂	Neurosis		(+) .	(+) (+)	(+) (+)	++++ +++(+)
H., ♀	Diabetes		— .	. .	(+) .	+++(+) ++++

1) n. = nüchtern.

schriften bereitet und gekocht. Die Mehrzahl von diesen hielt auch lange Zeit nach der Bereitung die strengsten Proben, in einigen Fällen wurden die zuerst „ninhydrinfreien“ Organe nach kurzer Zeit wieder „ninhydrinhaltig“. Aber auch in diesen Fällen ist es nicht annehmbar, daß die starken positiven Reaktionen, wie es Abderhalden behauptet, nämlich durch Summation ninhydrinpositiver Substanzen von dem unreinen Organ entstanden sind. Dieses geht deutlich aus vielen Kontrollen mit inaktiviertem Serum + Organ, sowie aus mehreren sogenannten Summationskortrollen hervor (in der Tabelle nicht angeführt). Des weiteren habe ich mich, unabhängig von Lange, durch mehrere Versuche davon überzeugt, daß in den Fällen, wo sich die Organe nicht vollständig und haltbar von löslichen ninhydrinpositiven Produkten auskochen lassen, es sich um nicht-dialysable Stoffe handelt, die nicht durch Summationswirkung zur positiven Reaktion des Dialysats beitragen können.

Auf den Einwand, daß die Organe nicht völlig blutfrei waren, erwidere ich, daß das wohl möglich ist, daß sie jedoch so blutfrei waren, wie es mit Abderhaldens Verfahren überhaupt möglich ist, sie zu erhalten. Uebrigens geben bluthaltige Organe, nach Abderhalden selbst, zwar oft, aber bei weitem nicht immer Anlaß zur positiven Reaktion, nämlich nur, wenn irgendwo im Körper ein Blutaustritt im Gewebe stattgefunden hat. Außerdem habe ich bei Versuchen, gekochtes Blutkoagulum als Organ anzuwenden, auch negative Resultate erhalten.

Betreffs der Hülsen möchte ich ferner hinzufügen, daß die Parallelproben (s. Tabelle) zur Genüge zeigen, daß bei diesen Versuchen eine unrichtige Beurteilung des Ausfalls der Reaktion nicht durch Hülsenfehler entstehen kann.

Außer meinen hier angeführten Untersuchungen über die Spezifität der Graviditätsreaktion habe ich noch verschiedene andere Versuche angestellt. So habe ich wie auch Kjærgaard gefunden, daß die Reaktion in wesentlichem Grad von der Organmenge abhängig ist (in meinen oben erwähnten Versuchen habe ich deshalb konstante Placentamengen angewandt). Ferner wurden die Reaktionen bei Anwendung von

verschiedenen Placentaorganen etwas verschieden stark. Bei Digestion im Eisschrank wird alle Fermentwirkung aufgehoben, bei Zimmertemperatur ist sie wesentlich abgeschwächt. Auch nach Inaktivierung des Serums während 1 Stunde bei 58—60° wurde für inaktives Serum + Organ mitunter stärkere Reaktion erhalten als für Serum allein (siehe Tabelle); doch war die Reaktion für aktives Serum + Organ stets bedeutend stärker. Dieser Umstand ist auch von Lange angedeutet worden. Derselbe Verfasser hat auch angedeutet, daß die positiven Reaktionen, wenigstens zum großen Teil, von autolytischen Prozessen im Serum bedingt werden sollten. Nach von mir angestellten vergleichenden Versuchen zwischen Serum in Eisschrank und Thermostat scheint die Autolyse im Serum für den Ausfall der Reaktion bei der Graviditätsreaktion keine nennenswerte Rolle zu spielen. Nach meinen Versuchen gibt das Dialysat von Gravidenserum allein nicht stärkere Ninhydrinreaktion als das Dialysat von Normalserum allein, was gemäß Lange und Herzfeld im allgemeinen der Fall sein soll. Auch wurden mehrere Versuche unter Anwendung anderer Organe und denaturierte Eiweißkörper als Antigen ausgeführt. Die Untersuchungen erlauben gegenwärtig noch keine Schlußsätze; ich will nur erwähnen, daß es mir niemals geglückt ist, proteolytisches Ferment gegen Hühnereiweiß und Gelatine, weder in Serum von Schwangeren noch Nicht-Schwangeren nachzuweisen.

Die wichtigsten Resultate meiner Untersuchungen möchte ich resumieren in folgender

Zusammenfassung.

1) Sorgfältiges Befolgen von Abderhaldens Vorschriften über die Prüfung der Hülsen bei der Dialysiermethode gibt keine sichere Garantie, daß sich nicht dennoch so große Ungleichförmigkeiten im Durchlässigkeitsvermögen der Hülsen vorfinden können, daß hierdurch oft wesentliche Fehler bei der Beurteilung der Schlußreaktionen entstehen müssen.

2) Mit Abderhaldens Dialysiermethode kann proteolytisches Ferment gegen Placenta bei Schwangeren öfter und in größeren Mengen nachgewiesen werden als bei Nicht-Schwangeren.

3) Durch Anwendung eines modifizierten Verfahrens bei der Dialysiermethode, wodurch die Fehler wesentlich reduziert werden, die bei Befolgung von Abderhaldens Vorschriften oft durch Ungleichförmigkeit der Hülsen, Infektionen und mangelnde Empfindlichkeit für den Nachweis von kleinen Fermentmengen entstehen müssen, ist es mir geglückt, proteolytisches Vermögen gegen Placenta in allen Seris nachzuweisen, sowohl von Schwangeren als von Nicht-Schwangeren.

Zu ähnlichen Resultaten ist auch Kjærgaard (Madsens Serologisches Institut in Kopenhagen) gelangt. Diesem Verfasser, dessen Untersuchungen besonders sorgfältig und meines Wissens nicht widerlegt sind, glückte es nämlich, sowohl mit der optischen als auch mit der Dialysiermethode, durch Verlängern der Digestionszeit auf 24 Stunden, proteolytisches Ferment gegen Placenta in allen Seris — von Schwangeren wie von Nicht-Schwangeren — nachzuweisen. Gegen seine Untersuchungen könnte man sich möglicherweise den Einwand denken, daß, da die Digestionszeit bei 37° auf 24 Stunden ausgedehnt wurde, die autolytischen Prozesse im aktiven Serum bei Anwesenheit von Placenta eine Rolle beim positiven Ausfall der Reaktionen spielen könnten. Da nach meinen Versuchen das proteolytische Ferment in allen untersuchten Fällen schon nach höchstens 16 Stunden nachgewiesen werden konnte, d. h. nach der von Abderhalden vorgeschriebenen Zeit, verfällt natürlich auch diese Möglichkeit, die von Abderhalden abweichenden Resultate Kjærgaards zu erklären.

Auch Herzfelds Untersuchungen mit einer quantitativen spektrophotometrischen Ninhydrinmethode, die jedoch nur ein sehr kleines Material umfassen, scheinen dafür zu sprechen, daß proteolytisches Ferment gegen Placenta sich in allen Sera findet.

Es dürfte am Platze sein, hervorzuheben, daß die Annahme eines proteolytischen Vermögens gegen Placentaeiweiß auch bei Normalsera in scharfem Kontrast steht mit der Ansicht Abderhaldens und mit dem „grundlegenden Versuch“, auf welchem seine ganze Theorie über die Spezifität der Graviditätsfermente basiert; eine solche Annahme steht auch in gewissem Widerspruch mit den Serien von spezifischen Graviditätsreaktionen, sowie auch mit den mittels verschiedener Methoden ausgeführten quantitativen Untersuchungen, welche gegenwärtig die Richtigkeit dieser Theorie zu beweisen scheinen. Wenn proteolytisches Ferment, sei es auch in geringen Mengen, im Normalserum vorkommt, so muß nämlich dies notwendigerweise zur Folge haben, daß, auch wenn man die Existenz von spezifischen Abwehrfermenten zugibt, die Abderhaldensche Dialysier-Graviditätsreaktion dennoch nicht spezifisch sein kann (d. h. in einer größeren Untersuchungsreihe annähernd 100 Proz. spezifische Resultate gibt). In allen Fällen, wo die Menge von ninhydrinpositiven Produkten in der Kontrollprobe sich der Reaktionsgrenze der Ninhydrinprobe nähert oder sie überschreitet, muß ja auch eine relativ kleine Fermentmenge eine positive resp. stärker positive Ninhydrinreaktion in der Hauptprobe und also eine positive Graviditätsreaktion zur Folge haben. Es wird ja auch in analoger Weise sehr deutlich von Abderhalden selbst demonstriert, wie auch eine sehr geringe Verunreinigung im Organe eine fehlerhafte positive Reaktion verursachen kann.

Was die von Abderhalden und seinen Mitarbeitern ausgeführten verschiedenen quantitativen Untersuchungen mit der optischen Methode, mit der Mikrostickstoff- und Aminostickstoff-Methode, sowie auch mit der interferometrischen Methode (siehe Fermentforschung, 1914, No. 1) betrifft, so deuten die Resultate nirgends auf die Anwesenheit von proteolytischem Ferment gegen Placenta im Normalserum hin. Es ist hierbei zu bemerken, daß die erwähnten Methoden, namentlich die interferometrische, empfindlich genug sein müssen, damit sie auch relativ geringe Fermentmengen anzeigen sollen.

Wenn also die Annahme eines proteolytischen Vermögens auch bei Normalseren ohne Zweifel in gewissem Widerspruch steht gegen die Untersuchungsresultate, welche die Richtigkeit der Abderhaldenschen Theorien beweisen sollen, so ist natürlicherweise eine solche Annahme doch nicht mit Abderhaldens Spezifitätslehre im ganzen unvereinbar. Wie auch andere Verfasser hervorheben, ist es nämlich wohl denkbar, daß neben unspezifischen Fermenten, die sich immer und in variierender Menge im Blute vorfinden, spezifische Fermente gegen blutfremde Stoffe gebildet werden; es ist auch denkbar, daß die Spezifität der Abwehrfermente nur eine relative ist. Es muß auch bedacht werden, daß es bisher nicht möglich war, spezifisches Organsubstrat zu erhalten, da dieses, wie Abderhalden oft angedeutet hat, immer aus der Mischung einer Menge verschiedener Eiweißkörper bestehen muß.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4527

Zeitschrift f. Immunitätsforschung. Originale. Bd. XXIV. No. 6.

[Aus dem Pathologischen Institut der Städtischen Krankenanstalt und dem Hygienischen Institut der Universität Kiel.]

Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Typhus-Infektion und -Immunität.

Von

Prosektor Dr. **E. Emmerich**

und

Dr. **Gerhard Wagner,** Assistent am Hygien. Institut.

(Eingegangen bei der Redaktion am 12. September 1915.)

Die Typhusschutzimpfung soll jetzt zum ersten Male in großem Maßstabe ihre Brauchbarkeit erweisen. Ob sie den gehegten Erwartungen zu entsprechen imstande ist, wird sich erst später durch statistische Erhebungen ermitteln lassen, es sei denn, daß es inzwischen gelingt, eine zuverlässige experimentelle Grundlage für ihre Bewertung zu finden. Es schien uns angebracht, nach einer solchen zu suchen, wobei uns im besonderen folgende Fragen beschäftigten:

1. Spielt die Art des Impfstoffes — monovalent oder polyvalent — eine Rolle hinsichtlich der Wirkung der Schutzimpfung?

2. Wie verhält sich die Widalsche Reaktion im infizierten Organismus nach voraufgegangener Immunisierung?

3. Nimmt die Erkrankung bei Immunisierten einen anderen Verlauf als bei nicht durch Impfung geschützten?

Die größte Schwierigkeit bei der experimentellen Prüfung aller den Typhus abdominalis betreffenden Fragen ergibt sich daraus, daß es bisher nicht gelungen ist, bei Laboratoriumstieren durch Infektion per os ein Krankheitsbild zu erzeugen, das in den wesentlichen Punkten der Erkrankung des Menschen gliche. Wohl aber besteht die Möglichkeit, durch unmittelbare Injektion in die Gallenblase die Typhuskeime bei Kanin-

chen zum Haften zu bringen. Diese Experimente stützen sich auf die von Chiari und seiner Schule festgestellte Tatsache, daß die Gallenblase beim Menschen eine Prädilektionsstelle für die Ansiedlung von Typhusbakterien darstellt.

Auch wir wählten für unsere Versuche die Gallenblase als Eintrittspforte der Infektionserreger; ein Weg, der uns in allen Fällen — mit einer Ausnahme — zu dem gewünschten Ziele — einer länger dauernden Ansiedlung der Krankheitserreger im Organismus der Tiere — führte. Versuche, immunisierte Tiere von der Gallenblase aus zu infizieren, sind unseres Wissens bisher nur von Uhlenhuth und Messerschmidt vorgenommen worden; doch bedienten sich diese Autoren des damals gebräuchlichen Pfeiffer-Kolleschen, also bei 56° abgetöteten Impfstoffes, während wir bei 53° abgetötete Impfstoffe benutzten, deren Wirksamkeit ja bekanntlich höher eingeschätzt wird.

Der Gang unserer Untersuchungen war folgender:

10 Kaninchen wurden mit Typhusimpfstoffen verschiedener Herkunft und verschiedener Zusammensetzung dreimal in Abständen von 5 Tagen mit steigenden Dosen intravenös gespritzt. Dabei ergaben sich folgende Versuchsreihen: Die Tiere 76, 77, 78 (siehe Tabelle I) wurden mit einem 22 verschiedene Stämme enthaltenden — 21 aus Blut gezüchteten, während einer dem Urin eines Dauerausscheiders entstammte — Impfstoff immunisiert, für dessen Ueberlassung wir Herrn Marineoberstabsarzt Riegel, Vorstand der Bakteriologischen Untersuchungsstation des Sanitätsamtes in Kiel, zu großem Danke verpflichtet sind. Die zweite Reihe (Tiere 80, 81, 83) wurden mit einem 4 Stämme enthaltenden Impfstoff behandelt, der im Hygienischen Institut hergestellt wurde. Die Tiere 84, 85, 86, 87 schließlich wurden mit einem monovalenten Impfstoff gespritzt. Etwa 7 Tage nach beendeter Immunisierung wurde der Agglutinationstiter bestimmt (siehe Tabelle II) und sodann wurden sämtliche Tiere, wie schon erwähnt, durch Injektion der Keime in die Gallenblase infiziert. Das gleiche geschah auch bei drei nicht immunisierten Tieren (92, 93, 94) als Kontrollen.

Hinsichtlich der Operationstechnik hielten wir uns, von kleinen Modifikationen abgesehen, an die von Hailer und Ungermann angegebene

Methode, so daß die Operation folgendermaßen verlief: Der Bauch des Kaninchens wurde rasiert und mit Jodtinktur bestrichen; darauf wurde in Aethernarkose die Bauchhöhle durch einen 5—6 cm langen, fingerbreit vom rechten Rippenbogen entfernten, parallel mit demselben verlaufenden, bis zur Medianlinie reichenden Schnitt eröffnet. Dann wurde der mit der Gallenblase in Verbindung stehende Leberlappen vorgezogen, so daß die Gallenblase frei vorlag. Mit der Rekordspritze wurde nun etwa ein $^1/_2$ ccm Galle aspiriert, die Kanüle in der Gallenblase belassen, durch eine Pinzette festgehalten und dann $^1/_2$ ccm Abschwemmung, enthaltend etwa eine Normalöse einer 24-stündigen Agarkultur injiziert. Durch eine Katgutschlinge wurde die Injektionsstelle fest verschlossen und dann die Kanüle herausgezogen. Peritoneum, Muskulatur und Haut wurden schichtweise vernäht. Sämtliche Tiere überstanden die Operation gut.

Was die Art des zur Impfung verwendeten Typhusstammes betrifft, so sei erwähnt, daß wir bei jeder Reihe je ein Tier mit einem Stamm impften, der im Impfstoff enthalten war, während die anderen mit fremden Stämmen geimpft wurden; die Tiere 77, 83 und 85 erhielten ein Gemisch von 4 Stämmen, ohne daß sich dabei, wie sich später erwies, ein Unterschied in der Stärke der Infektion ergab. Von sämtlichen Tieren wurde nun 100 Tage lang fortlaufend der Stuhl untersucht, und zwar sowohl in der Prosektur wie im Hygienischen Institut, in der Weise, daß die Kotballen zunächst 24 Stunden in Rindergalle blieben, wobei uns die Galle mit Peptonzusatz nach Conradi besonders gute Dienste leistete. Aus den Galleröhrchen wurden dann einige Oesen auf Endo-, Drigalski- und L. Bitters Chinablaunährboden ausgestrichen; es konnte hierbei eine gute Uebereinstimmung im Wachstum auf den verschiedenen Nährböden festgestellt werden. Die positiven Ergebnisse gehen aus der beigefügten Tabelle I hervor. Zur Erklärung derselben sei noch folgendes angeführt: Als wichtigster Befund zeigt sich zunächst, daß alle immunisierten Tiere zu Bacillenträgern wurden, mit Ausnahme des Tieres 80. Bei seiner am 8. Juli vorgenommenen Sektion stellte sich heraus, daß die Gallenblase stark geschrumpft und der Ductus choledochus vollständig obliteriert war; weder die Galle noch die Organe enthielten Typhusbakterien. Keiner der 3 verschiedenen Impfstoffe war also imstande, gegen die nachfolgende Infektion Schutz zu gewähren. Natürlich wird man nicht die Impfung in die Gallenblase einer Infektion per os, wie sie beim Menschen die Regel ist, gleich-

Tab

Tier No.	Art des Impfstoffes	Geimpft am			Infiziert am	Tage nach der Infektion															
						1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
76	Polyvalent: 22 Stämme	11. II.	16. II.	21. II.	11. III.	+	.	.	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
77	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	12. III.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
78	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	5. III.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
80	Polyvalent: 4 Stämme	11. II.	16. II.	21. II.	8. III.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
81	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	10. III.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
83	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	12. III.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
84	Monovalent: Stamm 933	16. II.	21. II.	26. II.	9. III.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
85	dgl.	16. II.	21. II.	26. II.	12. III.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
86	dgl.	16. II.	21. II.	26. II.	10. III.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
87	dgl.	16. II.	21. II.	26. II.	11. III.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
92	Kontrolle: nicht geimpft	—	—	—	4. III.	.	+	.	.	+	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.
93	dgl.	—	—	—	8. III.	+	.	+	+	+	.	.	.	+	+	.	.	.	+	.	+
94	dgl.	—	—	—	9. III.	+	+	+	+	.	.	.	+	.	.	+	.	+	.	.	+

Tier No.	Art des Impfstoffes	Geimpft am			Infiziert am	Tage nach der Infektion															
						51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66
76	Polyvalent: 22 Stämme	11. II.	16. II.	21. II.	11. III.	.	.	.	.	+	.	.	+	.	+	.	.	.	+	.	.
77	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	12. III.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	+	.	+	.	.	+
78	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	5. III.	.	.	+	+	.	.	.	.	.	.	+	+	+	.	.	.
80	Polyvalent: 4 Stämme	11. II.	16. II.	21. II.	8. III.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
81	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	10. III.	.	.	.	.	+	+	+	+	.	.	+	+	.	.	.	.
83	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	12. III.	.	+	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
84	Monovalent: Stamm 933	16. II.	21. II.	26. II.	9. III.	.	+	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	+	.	.	.
85	dgl.	16. II.	21. II.	26. II.	12. III.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	+	.	.	.
86	dgl.	16. II.	21. II.	26. II.	10. III.	.	.	.	+	.	+	.	+	.	.	+	+	.	.	+	+
87	dgl.	16. II.	21. II.	26. II.	11. III.	.	.	.	+	.	.	+	+	.	+	+	.	.	+	.	.
92	Kontrolle: nicht geimpft	—	—	—	4. III.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
93	dgl.	—	—	—	8. III.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
94	dgl.	—	—	—	9. III.	.	+	.	.	.	.	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.

Tage nach der Infektion																																Tier No.
19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	
+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	76
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	77
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	78
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	80
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	81
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	83
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	84
+	.	.	.	.	+	.	+	+	+	+	.	.	+	+	.	+	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	+	.	85
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	+	.	.	+	.	.	+	+	.	+	.	.	.	+	.	+	+	+	86
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	+	.	+	.	.	.	.	.	.	+	87
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	92
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	93
.	+	+	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	.	+	+	.	.	.	+	+	+	.	.	.	.	+	+	94

Tage nach der Infektion																																Tier No.
69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	
+	+	+	+	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	.	+	+	+	.	.	.	+	+	.	+	.	.	.	+	+	.	+	76
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	77
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	78
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	80
.	.	+	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	+	.	+	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	81
.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	83
	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	84
	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	+	.	.	+	.	.	+	.	.	.	+	.	.	.	+	+	+	+	+	.	85
	.	+	+	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	86
+	+	.	.	.	.	+	.	+	+	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	+	.	.	.	87
	.	+	.	.	+	.	+	.	+	.	.	.	+	.	.	+	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	92
	.	+	.	.	.	.	.	.	+	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	+	.	.	.	.	.	.	.	.	.	93
	.	.	.	.	+	.	.	.	+	.	+	+	.	.	.	.	.	+	.	.	+	.	.	.	+	.	.	.	.	.	+	94

setzen dürfen. Man könnte sich ohne weiteres vorstellen, daß die in der Gallenblase haftenden Typhuskeime gegen den Angriff der Immunkörper besser geschützt sind, als im Blute oder anderen Organen und ihnen so eine dauernde Ansiedlung ermöglicht wird. Wir würden es also nicht für berechtigt halten, aus unseren Versuchen einen Schluß auf die Wertlosigkeit der prophylaktischen Typhusschutzimpfung herleiten zu wollen. Im Gegenteil glauben wir, aus der Tabelle I einige Unterschiede zwischen immunisierten und nicht immunisierten Tieren herauslesen zu können, wenn auch das letzte Wort der Sektion der Tiere und der histologischen Untersuchung vorbehalten bleiben muß.

Zunächst zeigten die meisten — auch die immunisierten — Tiere in den ersten Tagen nach der Operation eine Ausscheidung von Typhusbacillen im Stuhl, was ja leicht erklärlich ist, da sehr bald ein Teil der eingespritzten Typhusbakterien aus der Gallenblase in den Darm übergeht. Dann aber tritt bei den immunisierten Tieren eine Pause ein; die Immunkörper vernichten vielleicht die in den Darm gelangenden Keime, und erst nach 3 Wochen gelingt bei diesen Tieren von neuem der Nachweis der Krankheitserreger, ja bei einigen Tieren dauert diese Pause noch beträchtlich länger. Von den nicht immunisierten Tieren dagegen zeigten zwei dauernde Ausscheidung vom Tage der Impfung ab. Dem ist natürlich entgegenzuhalten, daß die Stuhluntersuchung nicht so absolut zuverlässig ist, daß jeder ausgeschiedene Bacillus auch gefunden werden muß, wenn auch die fast tägliche doppelte Untersuchung die größtmögliche Sicherheit dafür gewährt. Auffallend ist ferner, daß bei den mit dem monovalenten Impfstoff immunisierten Tieren (besonders 85, 86 und 87) die Typhusausscheidung etwas früher und auch stärker einsetzte, als bei den mit polyvalenten Impfstoff behandelten, was vielleicht zugunsten des letzteren sprechen könnte. Ein periodisches Ausscheiden der Typhusbakterien, wie es bei den menschlichen Bacillenträgern häufig beobachtet wird, ergibt sich aus unserer Tabelle nicht.

Weiterhin nahmen wir Veranlassung, bei unseren Versuchstieren regelmäßig den Verlauf der *Widalschen Reaktion* zu untersuchen; und zwar beobachteten wir in etwa 3—4-

wöchentlichen Abständen die Reaktion sowohl bei den immunisierten und nachher infizierten wie auch bei den nur infizierten Tieren (92, 93 und 94). Außerdem immunisierten wir noch 3 weitere Kontrolltiere, um den Ablauf der Reaktion bei nicht infizierten Tieren zum Vergleich heranziehen zu können. Die Resultate sind in der beigefügten Tabelle II wiedergegeben. Wir stellten die Widalsche Reaktion stets mit 3 verschiedenen Stämmen an, von denen zwei besonders gut agglutinabel waren. Die in der Tabelle angeführten Zahlen stellen die Durchschnittswerte der in jedem Falle erhaltenen 3 Endtiter dar, da wir, der besseren Uebersicht halber, auf die Mitteilung sämtlicher Zahlen verzichten zu sollen glaubten.

Den Bemerkungen zu unserer Tabelle wollen wir ein paar Worte über die Widalsche Reaktion bei Schutzgeimpften vorausschicken, da wir in den letzten Monaten Gelegenheit hatten, eine Anzahl schutzgeimpfter

Tabelle II.

Tier No.	Art des Impfstoffes	Geimpft am			Agglutinationstiter 1 Woche nach der Impfung	Infiziert am	Durchschnittlicher Agglutinationstiter (3 Stämme) nach der Infektion				
							1. Woche	5. Woche	8. Woche	12. Woche	17. Woche
76	Polyvalent: 22 Stämme	11. II.	16. II.	21. II.	*20 000*	11. III.	—	2 000	2 000	3 700	3 500
77	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	*16 000*	12. III.	—	1 700	1 200	3 700	3 400
78	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	*4 000*	5. III.	—	1 600	900	1 700	†
80	Polyvalent: 4 Stämme	11. II.	16. II.	21. II.	*25 000*	8. III.	—	1 700	800	1 600	2 000
81	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	*12 000*	10. III.	—	2 000	1 700	4 000	1 200
83	dgl.	11. II.	16. II.	21. II.	*20 000*	12. III.	—	1 700	1 200	3 600	700
84	Monovalent: Stamm 933	16. II.	21. II.	26. II.	*12 000*	9. III.	—	1 900	9 00	2 000	500
85	dgl.	16. II.	21. II.	26. II.	*20 000*	12. III.	—	1 600	2 600	2 900	1 200
86	dgl.	16. II.	21. II.	26. II.	*20 000*	10. III.	—	1 500	1 900	2 000	2 200
87	dgl.	16. II.	21. II.	26. II.	*16 000*	11. III.	—	2 000	1 700	3 000	4 000
92	Kontrolle nicht geimpft	—	—	—	—	4. III.	5 200	2 000	1 300	1 200	1 100
93	dgl.	—	—	—	—	8. III.	5 100	750	800	500	250
94	dgl.	—	—	—	—	9. III.	7 000	2 000	800	500	300
97	Monovalent: Stamm „Washington" bei 56° abgetötet	1. IV.	7. IV.	12. IV.	—	Kontrollen nicht infiziert	*17 000*	*5 300*	*5 000*	*800*	*1 000*
98	dgl.	1. IV.	7. IV.	12. IV.	—		*17 000*	*5 300*	*12 000*	*900*	*200*
99	dgl.	1. IV.	7. IV.	12. IV.	—		*22 000*	*5 300*	*2 800*	*1 200*	*1 000*

Personen systematisch zu untersuchen. Es ergab sich hierbei im wesentlichen, daß zu gleicher Zeit, mit gleichen Mengen desselben Impfstoffes behandelte Personen jetzt nach Ablauf von 8 Monaten sehr verschiedene Agglutinationstiter aufwiesen: mehrere verhielten sich vollständig negativ, die Mehrzahl zeigte einen Widal von etwa 1:200, und in einem Falle fanden wir einen Titer von 1:800. Festzustellen war, daß die stärkere Reaktion bei der Impfung keineswegs einen stärkeren Agglutinationstiter, sei es anfänglich oder später, zur Folge hatte.

Die Tabelle II zeigt nun, daß die Agglutinationstiter unserer Versuchstiere, die nach Abschluß der Immunisierung recht hoch waren, trotz der stattgehabten Infektion im Laufe der nächsten Wochen beträchtlich absanken. Auch bei den ohne vorhergehende Immunisierung infizierten Tieren zeigte sich im Verlaufe der nächsten Wochen eine starke Abschwächung ihres nach der Impfung in die Gallenblase ermittelten immerhin nicht unerheblichen Agglutinationstiters; auch bei den Kontrolltieren war das gleiche festzustellen. Bei allen 3 Arten von Tieren war die Schnelligkeit und das Maß des Absinkens etwa gleich. Daß bei unseren zuerst immunisierten und dann infizierten Tieren eine starke und ununterbrochene Herabsetzung der Agglutinationswerte stattfand, scheint mit den Gesetzen der Immunitätslehre nicht ohne Weiteres vereinbar. Man sollte vielmehr annehmen, daß im Organismus dauernd Bacillen tragender Tiere ein fortwährender Reiz zur Bildung neuer Agglutinine stattfindet, die zu den durch die Immunisierung vorhandenen hinzutreten oder wenigstens eingetretene Verluste der primär entstandenen auszugleichen imstande sein müßten. Da nach unseren Beobachtungen beides nicht der Fall ist, wäre für das Absinken der Agglutinine eine Erklärung zu suchen. In Frage kommt, daß entweder eine Erschöpfung der Agglutinine bildenden Faktoren infolge ihrer unausgesetzten Inanspruchnahme eintritt oder aber, daß die dauernd im Körper angesiedelten Typhuskeime die Fähigkeit verlieren, agglutininerregend zu wirken.

Das Verhalten unserer nicht immunisierten Bacillenträgertiere scheint mit dem menschlicher Typhusbacillendauerausscheider übereinzustimmen, denn auch bei diesen steht der Endtiter ihrer Widalschen Reaktion gewöhnlich recht niedrig.

So fand Bindseil bei einem chronischen Typhusbacillenträger einen Widal von nur 1:50, ebenso weist der von Messerschmidt mitgeteilte

Sektionsbericht einer Typhusbacillenträgerin eine Widalsche Reaktion des Leichenblutes von nur 1:20 auf. Aehnliches konnte der eine von uns (Wagner) in den letzten Jahren in 2 Fällen beobachten. Einmal handelte es sich um eine Frau, die 1898 einen Typhus überstanden hatte und im Herbst 1913 Veranlassung zu einer von B. Fischer beschriebenen Milchepidemie in Heide (Holstein) gab. Während im Stuhl Typhusbacillen reichlich gefunden wurden, war die Widalsche Reaktion mit 2 Typhusstämmen vollständig negativ. Im 2. Falle, der in der hiesigen Bakteriologischen Untersuchungsstation der Marine beobachtet wurde, hatte ein für eine kleine Schiffsepidemie verantwortlicher Dauerausscheider, der, vor 2 Jahren erkrankt, jetzt noch fast täglich Typhuskeime im Urin ausschied, eine nur schwache Widalsche Reaktion von 1:30 mit einem fremden und von 1:50 mit seinem eigenen Stamm. Nicht ganz damit übereinzustimmen scheint die Angabe Prigges, der unter 89 chronischen Bacillenträgern und Dauerausscheidern bei 70 in einer Serumverdünnung von 1:100 Agglutination fand. Doch geht aus seinen Ausführungen nicht hervor, wie lange die überstandene Infektion zurücklag; zudem muß auch ein Agglutinationswert von 1:100 als ein niedriger bezeichnet werden.

Wir konnten außerdem auch die Frage des Ueberganges der Agglutininen von der Mutter auf den Fötus bei 3 Würfen von Kaninchen untersuchen. 2 Würfe stammten von immunisierten und 1 Wurf von einem infizierten Kaninchen. Die sämtlichen Jungen im Alter von 4—5 Wochen zeigten eine Agglutination von 1:100, zum Teil auch von 1:200[1]).

Der Infektionverlauf bei vorher immunisierten, wie auch bei den nur infizierten Tieren ergab keinerlei Unterschiede, es sei denn, daß die Bacillenausscheidung bei den immunisierten, wie schon oben erwähnt, etwas spärlicher war. Ueberhaupt zeigten uns die Versuche, daß wir die Typhusinfektion beim Kaninchen nicht mit der menschlichen gleichsetzen dürfen, schon in den Krankheitssymptomen kommt das deutlich zum Ausdruck. Unsere Tiere bekamen keine Durchfälle, sie fraßen gut, zeigten keine Gewichtsabnahme. Nur eins von den geimpften Tieren (78) erlag nach 10 Wochen der Infektion[2]). Bei der Sektion fand sich außer einer mäßigen

---

1) Im Gegensatz zu dieser Beobachtung berichtet Engelhorn in einer kürzlich erschienenen Arbeit (Münch. med. Wochenschr., 1916, p. 203), daß er im Nabelschnurblut neugeborener Kinder, deren Mütter während der Schwangerschaft gegen Typhus geimpft waren, keine Agglutinine nachweisen konnte.

2) Dieses Tier wies nach der Immunisierung den bei weitem niedrigsten Agglutinationstiter (s. Tabelle II) auf. Vielleicht lag hier eine besonders geringe Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Typhusvirus, sowohl gegenüber dem abgetöteten wie dem lebenden, vor.

Cholecystitis und geringer Injektion des Dünndarmes kein pathologischer Befund. Typhusbacillen wurden aus Galle, Leber, Dünn- und Dickdarm, Herzblut und Knochenmark gezüchtet; die Krankheit verlief alsc unter dem Bilde einer Typhussepsis. Auf die histologischen Veränderungen soll an anderer Stelle eingegangen werden. Ein weiteres von unseren Versuchstieren haben wir nach 12 Wochen getötet und fanden bei der Sektion eine schwere Cholecystitis mit Cholelithiasis; am Darm keine Veränderungen. Auch hier gelang die Züchtung aus Gallenblase und Dünndarm.

Wir konnten uns nicht davon überzeugen, daß die Typhusbacillen nach Gewöhnung an den tierischen Organismus bei weiterer Verimpfung in die Gallenblase ein typhusähnliches Krankheitsbild erzeugen (Uhlenhuth und Messerschmidt), wie wir durch Weiterverimpfung von Stämmen, die wir aus unseren Tieren züchteten, auf andere feststellten. Sicher ist nur, daß es gelingt, Kaninchen durch Impfung von Typhusbacillen in die Gallenblase zu Dauerausscheidern zu machen, wie wir das auch bei unseren Tieren jetzt fast seit einem halben Jahre beobachten. Insofern bieten diese Tiere ein geeignetes Material für therapeutische Versuche, was besonders in Hinblick auf die Arbeiten von Géronne und Lenz sowie Kalberlah wichtig erscheint, die in der Tierkohle in Verbindung mit Thymol bzw. Jodtinktur ein geeignetes Mittel gefunden zu haben glauben, um Typhusbacillenträger zu heilen. Die diesbezüglichen Versuche bei unseren Tieren sind eingeleitet.

Zusammenfassung.

1) Kaninchen werden durch eine vorausgegangene Immunisierung bei nachheriger Impfung von Typhusbazillen in die Gallenblase vor einer Infektion nicht geschützt. Die Tiere werden zu Dauerausscheidern.

2) Die Art des verwendeten Impfstoffes, ob mono- oder polyvalent, spielt dabei keine wesentliche Rolle.

3) Immunisierte und nachher infizierte Tiere zeigen ebenso wie nur infizierte Tiere im Verlauf ihrer Bacillenträgerschaft eine beträchtliche Abschwächung ihres Agglutinintiters.

4) Die Gallenblasenimpfung beim Kaninchen erzeugt kein dem Typhus abdominalis ähnliches Krankheitsbild, wohl aber einen den menschlichen Bacillenträgern in vieler Beziehung analogen Befund.

Nachtrag bei der Korrektur.

In dem seit Abfassung der Arbeit vergangenen halben Jahr haben wir die Mehrzahl der Tiere getötet und einer eingehenden bakteriologischen Untersuchung unterzogen. Wir fanden fast stets Typhuskeime nicht nur in der Gallenblase und im Darm, sondern auch vielfach in anderen Organen. Da uns die Tiere also eine chronische Allgemeininfektion darboten, so nahmen wir von den beabsichtigten therapeutischen Versuchen, die ja nur lokale Wirkung hätten erzielen können, Abstand.

Wir finden auch jetzt — ein Jahr nach der Infektion — bei den noch am Leben befindlichen Tieren fast täglich Typhusbakterien im Stuhl. Die Widalsche Reaktion hält sich annähernd auf der in Tabelle II angegebenen Höhe.

Literatur.

Bindseil, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 74, 1913, p. 369.

Géronne und Lenz, Berl. klin. Wochenschr., 1915, p. 341.

Hailer und Ungermann, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 47, 1914, p. 451, und Deutsche med. Wochenschr., 1912, p. 2267.

Hailer und Wolff, Arb. a. d. Kaiserl. Ges.-Amt, Bd. 47, 1914, p. 470.

Kalberlah, Med. Klin., 1915, Heft 15.

Messerschmidt, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. 75, 1915, p. 411.

Prigge, Arb. a. d. Kais. Ges.-Amt, Bd. 41, 1912, p. 297.

Uhlenhuth und Messerschmidt, Deutsche med. Wochenschr., 1912, p. 2397.

[Aus dem serologischen Laboratorium des Städt. Krankenhauses Stuttgart (Katharinenhospital — Vorstand: Hofrat Th. Koch).]

Studien über Organextrakte.

Von **A. Jaiser,**
I. Assistenten der Abteilung.

(Eingegangen bei der Redaktion am 29. September 1915.)

Die vielfachen Widersprüche in der Literatur über die Güte und Brauchbarkeit der zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion verwendeten Antigene veranlaßten mich, vergleichende Untersuchungen über die bis jetzt beschriebenen und empfohlenen Organextrakte anzustellen.

Die umfangreichen Untersuchungen der Wassermannschen Schule, wässerige Suspensionen menschlicher oder tierischer Organe an die Stelle der schwer beschaffbaren luetischen Fötalleber zu setzen, haben die Unbrauchbarkeit solcher Extrakte dargetan.

Nur in vereinzelten Fällen gelang es Bruck, Plaut u. a., durch Mazeration oder durch Extraktion mit verdünnter Kalilauge einigermaßen brauchbare wässerige Antigene aus Normalorganen zu erzielen.

Durch die von mir angestellten Versuche sollte zunächst die Frage entschieden werden, ob durch größtmögliche Zerkleinerung und damit bedingte feinste Suspension des Organs im Medium doch vielleicht ein brauchbares Antigen zu erzielen sei. Zu diesem Zweck wurden kleine Stücke desselben zunächst 1—2 Tage in absolutem Alkohol gehärtet, mit der Schere möglichst fein zerkleinert, mit mittelfeinem Glaspulver zerrieben und das auf diese Weise pulverisierte Organ 24 Stunden lang mit der 4-fachen Menge Karbol-Kochsalzlösung im Schüttelapparat geschüttelt. Um zu verhindern, daß während des Härtungsprozesses wirksame Substanzen des Organs in den Alkohol übergehen, wurde derselbe im Vakuum verdampft und der Rückstand mit der zur Ausschüttelung bestimmten Menge Karbol-Kochsalzlösung aufgenommen.

Die erhaltenen Extrakte zeigten das Organ in denkbar feinster Suspension und konnten nach einigen Tagen vom Bodensatz, der fast ausschließlich aus dem spezifisch schwereren Glaspulver bestand, abgegossen werden.

Die Prüfung der hergestellten Extrakte geht aus Tabelle I hervor.

Tabelle I. *Wässerige Normalextrakte.*

	Luetisches Serum					Nichtluetisches Serum				
	Extraktmenge					Extraktmenge				
T =	0,2	0,1	0,05	0,025	0,0125	0,2	0,1	0,05	0,025	0,0125
Mensch										
Herzmuskel	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Leber	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Milz	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—
Niere	++	—	—	—	—	+	—	—	—	—
Meerschweinch.										
Herzmuskel	+++	+	—	—	—	+++	—	—	—	—
Leber	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Milz	+++	+++	+++	—	—	+++	+++	+	—	—
Niere	+++	+++	++	—	—	+++	++	+	—	—

Während der aus menschlichem Herzmuskel erhaltene Extrakt vollständige, der Leberextrakt fast vollständige Hämolyse zeigt, weisen die aus Menschenmilz und -niere, sowie die aus Meerschweinchenherzmuskel hergestellten Antigene bei 0,2, die Extrakte von Menschenmilz und -niere unspezifische Hemmungen in einer Dosis von 0,05—0,2 auf, Meerschweinchenleberextrakt wäre nur in stärkster, für einwandfreie Verwendung nicht in Betracht kommender Konzentration verwendbar.

Es gelang trotz veränderter Arbeitsmethode nicht, aus normalen Organen menschlichen oder tierischen Ursprungs für die Praxis brauchbare wässerige Extrakte herzustellen; die von *Kobayashi* auf Veranlassung *Brucks* mit gleichfalls negativem Erfolg unternommenen Versuche konnten demnach meinerseits voll bestätigt werden.

Andererseits erhielten wir nach dem modifizierten Verfahren aus luetischen Fötallebern Antigene von hoher Wirksamkeit.

Die Tatsache, daß Lebern trotz reichlichen Spirochätenbefundes sich nach der Verarbeitung häufig als nicht brauchbar

erwiesen (Boas), und das von Bruck bei wässerigen Luesleberextrakten häufig beobachtete, auch unsererseits bestätigte Phänomen der Eigenhemmung ließ uns die Frage ventilieren, ob durch geeignete Bearbeitung unbrauchbare Extrakte in brauchbare übergeführt werden könnten. Tabelle II zeigt das Ergebnis der Umarbeitung der auf Tabelle I vermerkten wässerigen Normalextrakte. Dasselbe günstige Resultat war bei den auf Tabelle IV angeführten wässerigen Luesleberextrakten, die alle starke Eigenhemmung aufwiesen, festzustellen.

Tabelle II. Umgearbeitete wässerige Normalextrakte.

	Luetisches Serum					Nichtluetisches Serum				
	Extraktmenge					Extraktmenge				
T =	0,2	0,1	0,05	0,025	0,0125	0,2	0,1	0,05	0,025	0,0125
Mensch										
Herzmuskel	+++	+++	+++	++	—	+++	—	—	—	—
Leber	+++	+++	+	—	—	+++	—	—	—	—
Milz	+++	+++	—	—	—	+++	—	—	—	—
Niere	+++	+++	+++	+++	—	+++	—	—	—	—
Meerschweinch.										
Herzmuskel	+++	+++	+++	+++	—	+++	—	—	—	—
Leber	+++	+++	—	—	—	+++	—	—	—	—
Milz	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—	—
Niere	+++	+++	+++	+	—	+++	—	—	—	—

Es gelang in der Tat, nicht nur die spezifische Eigenhemmung in den praktisch brauchbaren Dosen aufzuheben, sondern auch die Verstärkung der Antigene so weit zu treiben, daß einige der umgearbeiteten Normalextrakte, z. B. Meerschweinchenherzmuskel- und Menschennieren-Extrakt, syphilitischen Leberextrakten, im Titer wenigstens, nicht nachstanden. Da eine Umarbeitung relativ einfach ist und unter den wässerigen Luesleberextrakten mitunter auch solche ohne Eigenhemmung erhalten werden können, empfiehlt es sich, jede Leber zunächst auf wässerigen, und erst wenn dieser nicht befriedigt, auf alkoholischen Extrakt zu verarbeiten.

Zur Ausführung der Methode wird die Menge des wässerigen Extraktes zunächst genau ermittelt und hierauf im Vakuum bei möglichst niederer Temperatur so weit eingedampft, bis der Rückstand nur noch dickflüssige Konsistenz zeigt. Wir verwenden hierzu ein Vakuumgefäß, das 1 l Flüssigkeit faßt, in Verbindung mit einer Lautenschlägerschen Wasser-

von
sen
nes
ens
haft

and
zur
eter
zur

ab-
Zeit
wir
ren
zu
hen.
Ex-

len
er-
och
ie-
rü-
m-

tets
zur
der
auf-
an-
nde-
rakt

yse,
lige

tets

auch noch Kontrollen ohne Extrakt eingeschaltet, da ja bei

erwiesen (Boas), und das von Bruck bei wässerigen Lues-
leb
Ph
ob
bra
Er
ser
den
die

Mensch
Herz
Leber
Milz
Niere
Meerscl
Herz
Leber
Milz
Niere

hen
son
daß
sch
tisc
Da
ser
her
Lel
bef

ser
Va
bis
Wi
faßt, in Verbindung mit einer Lautenschlägerschen Wasser-

strahlpumpe, wobei wir zur Vermeidung des Eindringens von Wasser beim Aufheben des Vakuums oder beim Nachlassen des Wasserleitungsdruckes ein mit Manometer versehenes Ueberlaufgefäß zwischenschalten. Zur Vermeidung des Stoßens während des Eindampfens werden der Flüssigkeit vorteilhaft 3—5 Glasperlen zugegeben.

Der dickflüssige, äußerst aromatisch riechende Rückstand wird mit Sand verrieben, die Verreibung im Vakuum zur Trockene gebracht und hierauf mit so viel Kubikzentimeter absoluten Alkohols angerieben, als wässeriger Extrakt zur Aufarbeitung gekommen war.

Nach 24-stündigem Schütteln im Schüttelapparat wird abfiltriert, 8 Tage lang stehen gelassen und nach dieser Zeit nochmals filtriert. Die Feststellung des Titers nehmen wir meist unmittelbar nach Fertigstellung vor und kontrollieren späterhin die weniger häufig verwendeten Extrakte von 3 zu 3 Monaten mit zuverlässigen syphilitischen Standardantigenen. Eine Abnahme der Wirksamkeit war bei alkoholischen Extrakten seltener, bei wässerigen häufiger festzustellen.

Bei der Einstellung unserer Extrakte wenden wir nicht nur fallende Extraktmengen zur Titerbestimmung an, wir ermitteln vielmehr auch noch mit fallenden Mengen luetischen Serums diejenige kleinste Zahleneinheit, auf die der zu prüfende Extrakt eben noch mit vollständiger Hemmung anspricht (Sensibilitätsbestimmung).

Bei der Feststellung des Serumwertes arbeiten wir stets auch mit fallenden Mengen von Normalserum, einesteils zur Sicherstellung unserer Befunde, anderenteils zur Prüfung der von *Elias*, *Neubauer*, *Porges* und *Salomon* (1) aufgestellten Behauptung, man könne eine der *Wassermann*schen Reaktion analoge Komplementbindung durch Veränderung des relativen Verhältnisses von Serum und Organextrakt erzielen.

Nur in ganz vereinzelten Fällen war partielle Hämolyse, sonst war als Ergebnis in allen Verdünnungen vollständige Hämolyse zu konstatieren.

Zur weiteren Stütze unserer Befunde haben wir stets auch noch Kontrollen *ohne* Extrakt eingeschaltet, da ja bei

steigenden Serummengen zufolge des natürlichen Ambozeptorgehaltes der Sera die hämolytische Wirkung wachsen oder aber bei der Eigenhemmung mancher Sera direkt unterdrückt werden kann.

Bei der Auswahl der zur Titer- und Sensibilitätsbestimmung zu benutzenden Blutproben weichen wir von der üblichen Praxis ab.

Wir benutzen nicht nur ein sicher syphilitisches und ein sicher nichtsyphilitisches Serum, sondern stellen uns Mischungen von mindestens 10 verschiedenen Seren her, die wir bei der letzten Untersuchung als sicher positiv bzw. als sicher negativ erkannt hatten.

Wir bekommen so bessere Durchschnittswerte und verhüten selbst bei einem Umschlag des einen oder anderen Serums Fehlresultate. Auch wird auf diese Weise die Beschaffung größerer Serummengen, wie sie bei den von mir vorgenommenen Reihenvergleichsuntersuchungen nötig waren, ermöglicht.

Bei dieser Gelegenheit mag eingeschaltet werden, daß wir gar nicht sehr selten ein Umschlagen von Seren von einem Untersuchungstag zum anderen konstatieren mußten, trotz des ständigen Aufbewahrens unserer Sera im Eisschrank.

Fast ausschließlich handelte es sich um Blutproben von Patientinnen, die frisch geboren hatten und bei denen keinerlei Anhaltspunkte für Lues vorlagen. Da wir bei unseren Versuchen stets mit austitriertem Komplement, Ambozeptor und Antigen arbeiteten, müssen wir annehmen, daß im Blut solcher Patienten äußerst labile Stoffe vorhanden sind, die die Wassermannsche Reaktion auslösen.

Eine Bestätigung dieser Tatsache mußte zur Folge haben, daß Blutproben von Wöchnerinnen wiederholt zu untersuchen sind und daß ein endgültiges Urteil erst abzugeben ist, wenn die Befunde der einzelnen Untersuchungen übereinstimmen.

Auch bei der Untersuchung des Blutserums von Ammen auf Wassermann müßte dieser Vorschlag Berücksichtigung finden.

Nachdem eine befriedigende Lösung des ersten Teiles unserer Aufgabe gelungen war, interessierte ein Vergleich umgearbeiteter Normalextrakte mit solchen, die auf direktem Wege hergestellt worden waren.

Zu diesem Zweck wurde eine größere Anzahl Extrakte aus menschlichen und tierischen Organen bereitet in der Weise, daß die Organe in der 9-fachen Menge ihres Gewichtes absoluten Alkohols 1—2 Tage lang gehärtet, mit der Schere möglichst fein zerkleinert, mit mittelfeinem Glaspulver oder Quarzsand verrieben und die so zu Pulver zerriebenen Organe mit dem zur Härtung vorwendeten Alkohol 24 Stunden lang geschüttelt und dann filtriert wurden.

Aus Tabelle III sind die verarbeiteten Organe und der gefundene Titer ersichtlich.

Tabelle III. Alkoholische Normalorganextrakte.

	Luetisches Serum					Nichtluetisches Serum				
	Extraktmenge					Extraktmenge				
T =	0,2	0,1	0,05	0,025	0,0125	0,2	0,1	0,05	0,025	0,0125
Mensch										
Hirn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Knochenmark	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—
Hoden	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—
Ovarien	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—
Ovarialcyste	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Schilddrüse	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—
Pankreas	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—
Halsdrüsen	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—
Milz	+++	+	—	—	—	+++	—	—	—	—
Fett, alkohol.	+++	++	—	—	—	+++	—	—	—	—
„ Aceton	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—
Leber	+++	+++	—	—	—	+++	—	—	—	—
Nebenniere	+++	+++	—	—	—	+++	—	—	—	—
Nebenniere mit 1% öls. Natron	—	+++	—	—	—	—	+++	+	—	—
Herzmuskel	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—	—
Muskel	+++	+++	+++	+	—	+++	—	—	—	—
Niere	+++	+++	+++	+++	—	+++	—	—	—	—
Meerschweinchen										
Leber	+++	+	—	—	—	+++	—	—	—	—
Milz	+++	+++	—	—	—	+++	—	—	—	—
Nebenniere	+++	+++	—	—	—	+++	—	—	—	—
Niere	+++	+++	+	—	—	+++	—	—	—	—
Herzmuskel	+++	+++	+++	++	—	+++	—	—	—	—

In Widerspruch mit meinem Befund steht die Empfehlung Levaditis und Yamanouchis (2), alkoholische Hirnextrakte

zu verwenden; es gelang mir mit Extrakten aus diesem Organ in keinem Falle, Hemmung zu erzielen, ebenso erwiesen sich die nach den Angaben von Kiss aus normalem Fettgewebe der Leiche hergestellten Extrakte sowohl in alkoholischer Form wie als Acetonextrakte als vollkommen unwirksam. Auch die Befunde von Schatiloff und Isabolinski (3) bedürfen einer Korrektur.

Meine Erwartung, daß solche Organe, die einen relativ hohen Prozentsatz an Lipoiden aufweisen, wie die Milz, deren Lipoidgehalt von Schmincke (4) in einer neuerdings veröffentlichten Arbeit auf 1,11 Proz. festgesetzt wurde, wobei 0,39 Proz. für Cholesterin und bis zu 0,24 Proz. für Lecithin angesetzt werden müssen, zur Herstellung wirksamen Extraktes sich besonders eignen, hat sich nicht erfüllt. Mit den aus Menschenknochenmark, -hoden, -ovarien, -fett etc., sowie den aus Meerschweinchenleber erhaltenen Extrakten bildet das aus Menschenmilz hergestellte Antigen eine Gruppe, deren Vertreter nur unspezifische Hemmungen in hoher Konzentration aufweisen.

Etwas besser schließt die zweite, in einer Konzentration von 0,1 hemmende Gruppe ab, es gehören hierher die nach Ciaccios (5) Untersuchungen gleichfalls Glyzerin- und Cholesterinester, Cholesteringemische sowie komplexe Lipoide (Phosphatide) enthaltende Nebenniere und die Extrakte aus Menschenleber und Meerschweinchenmilz.

Die dritte Gruppe endlich enthält solche Extrakte, die an Brauchbarkeit Luesleberextrakten nicht nachstehen.

Hierher zählen Menschenniere, -muskel, -herzmuskel, Rinder- und Meerschweinchenherzmuskelextrakt.

Ueber die Brauchbarkeit des letzteren sind sich alle Autoren einig, dagegen ist die Vorzüglichkeit der aus menschlicher Niere hergestellten alkoholischen Extrakte in der Literatur nirgends hervorgehoben.

Ich habe sowohl direkt hergestellten alkoholischen wie den nach meinem Verfahren umgearbeiteten wässerigen Extrakt gegen zwei Lues-Leberstandardantigene an 236 Blutproben verglichen und insgesamt nur rund 1 Proz. Fehlresultate feststellen können, und zwar handelte es sich dabei um latente Fälle; Syphilis im Primär- und Sekundär-

stadium wurde stets einwandfrei und in Uebereinstimmung mit den Standardextrakten angezeigt.

Vergleichen wir nun die auf Tabelle II angeführten Extrakte mit denen auf Tabelle III, so tritt die schon früher angeführte Tatsache wiederum in Erscheinung, daß Extrakte durch Umarbeitung nur gewinnen können. Es sei bei dieser Gelegenheit erwähnt, daß selbstverständlich bei allen Reihen- sowie den zugehörigen Vergleichsuntersuchungen stets dasselbe hämolytische System sowie dieselben Vergleichssera benutzt wurden.

Tabelle IV. Wässerige Luesleberextrakte.

	Luetisches Serum							Nichtluetisches Serum						
	Extraktmenge							Extraktmenge						
T =	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,0025	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,0025
Extrakt 1	+++	+++	+++	+	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—
„ 2	+++	+++	+++	+++	+	—	—	+++	+++	+++	+	+	—	—
„ 6	+++	+++	+++	+	—	—	—	+++	+++	++	+	—	—	—
„ 7	+++	+++	+++	—	—	—	—	+++	+++	+++	—	—	—	—
„ X	+++	+++	—	—	—	—	—	+++	+++	—	—	—	—	—
Gekaufter Extr. S. S. Kontroll-No. C	+++	+++	—	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—
Desgl. L. W. G. No. 38	+++	+++	—	—	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—
Nach der Umarbeitung														
Extrakt 2	+	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 6	+++	+++	+++	+++	++	—	—	+++	—	—	—	—	—	—
„ 7	+++	+++	+++	+++	—	—	—	+++	+++	—	—	—	—	—
„ X	+++	+++	+++	++	—	—	—	+++	—	—	—	—	—	—

Bei einem Vergleich der umgearbeiteten Normalextrakte auf Tabelle II mit den umgearbeiteten Luesleberextrakten auf Tabelle IV scheinen die ersteren den letzteren nicht nachzustehen, wenn man den Titerwert allein berücksichtigt, es ist aber, wie ich schon ausgeführt habe, bei der Beurteilung eines Extraktes, hauptsächlich bei Vergleichsuntersuchungen, von Wichtigkeit, nicht nur den Titerwert, sondern auch die kleinste, von dem Extrakt noch angezeigte Menge luetischen Serums und damit die noch angezeigte geringste Menge von Antikörpern festzustellen (Sensibilitätsbestimmung = S).

Tabelle V.

	Luetisches Serum							
	Fallende Mengen							
S =	0,1	0,05	0,025	0,01	0,008	0,005	0,003	0,001
Extrakt 2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
„ 6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
„ 7	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—
„ X	+++	+++	+++	+++	++	++	—	—
Gekaufter Luesleberextrakt S. S. Kontroll-No. C	+++!	—	—	—	—	—	—	—
Desgl. L. W. G. Kontroll-No. 38	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—
Mensch								
Niere	+++	+++	+	—	—	—	—	—
Herzmuskel	+++	+++	++	—	—	—	—	—
Meerschweinchen								
Niere	+++	+++	+	—	—	—	—	—
Herzmuskel	+++	+++	++	—	—	—	—	—
Milz	+++	+++	—	—	—	—	—	—

Wir ersehen aus Tabelle V, daß in dieser Beziehung die Luesleberextrakte den alkoholischen Normalorganextrakten weit überlegen sind.

Das bedeutet, auf die Praxis übertragen, nichts anderes, als daß Luesleberextrakte noch positive Ausschläge geben, wenn Normalextrakte längst versagen[1]).

Auf diese Weise erklären sich die Versager der Normalextrakte im latenten Stadium der Syphilis.

Es ist deshalb vollkommen richtig, wenn seitens der Wassermannschen Schule trotz Anerkennung der Normalextrakte für eine absolut zuverlässige Serodiagnostik der Luesleberextrakt gefordert und für unersetzlich gehalten wird.

Als weitere Kategorie von Extrakten interessieren die von Kolle und Stiner (6) empfohlenen Acetonextrakte aus syphilitischen Lebern.

Während die einen damit gute bis sehr gute Resultate erzielt haben wollen, sprechen andere Untersucher, wie Sachs, Nielsen-Geyer und Heinlein, sich weniger günstig über dieselben aus.

---

1) Das ist bei der quantitativen Auswertung der Sera ein sehr beachtenswertes Moment.

Tabelle VI. *Acetonextrakte.*

	Luetisches Serum							Nichtluetisches Serum			
	Extraktmenge							Extraktmenge			
T =	0,2	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,002	0,2	0,1	0,05	0,02
Acetonextrakt A	+++	+++	++	++	—	—	—	+	+	—	—
„ B	+	+++	+++	++	—	—	—	+	+	+	—
„ C	+++	+++	+++	+++	—	—	—	+++	+++	+	—
„ D	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	+++	+++	+++	—

	Luetisches Serum								
	Fallende Mengen								
S =	0,1	0,05	0,025	0,01	0,008	0,005	0,003	0,002	0,001
Acetonextrakt A	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—
„ B	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
„ C	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
„ D	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—	—

Wie aus Tabelle VI hervorgeht, zeigen die von uns nach Vorschrift der Autoren hergestellten Antigene *unspezifische Hemmungen*, und zwar Extrakt A und B weniger stark, Extrakt C und D jedoch in besonders prägnanter Form.

Der Sensibilitätswert ist etwas niedriger wie der umgearbeiteter Luesleberextrakte, aber doch wesentlich höher als der von Normalorganextrakten; auch hier liefert der Sensibilitätswert den Beweis für die Ueberlegenheit der aus luetischen Organen hergestellten Antigene.

Zur Beseitigung der unspezifischen Hemmungserscheinungen wurden die Acetonextrakte auf bekannte Weise in alkoholische verwandelt; *es gelang nicht nur eine beinahe vollständige Entfernung der störenden Hemmung*, es war auch *eine weitere Verstärkung* der Extrakte festzustellen.

Tabelle VII. *Umgearbeitete Acetonextrakte.*

	Luetisches Serum								Nichtluetisches Serum				
	Extraktmenge								Extraktmenge				
T =	0,2	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,003	0,001	0,2	0,1	0,05	0,025	0,01
Extrakt A	+	+++	+++	+++	+++	+	+	—	+++	—	—	—	—
„ B	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—	+++	—	—	—	—
„ C	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—	+++	+	—	—	—
„ D	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—	+++	+++	—	—	—

Man kann sich die Wirkung auf die Extrakte beim Umarbeiten vielleicht so vorstellen, daß durch die Erwärmung eine Zerstörung der unspezifisch hemmenden Elemente bewirkt, anderseits aber durch die zugeführte Wärme ein besserer Aufschluß der Zellelemente und vielleicht gewisse chemische Umsetzungen innerhalb der Zellen stattfinden, die eine Vermehrung der spezifisch hemmenden Stoffe im Extrakt zur Folge haben.

Nach den Untersuchungen Oluf Thomsens zeigen die von Michaelis vorgeschlagenen und von verschiedenen Autoren mit gutem Erfolg verwendeten Menschenherzextrakte ganz konstante Wirkung; 40 Extrakte, gegen dasselbe Serum geprüft in fallenden Dosen, ergaben völlig übereinstimmende Resultate.

Michaelis, Müller und Lange halten alkoholische Herzextrakte den syphilitischen Extrakten für überlegen, andere Autoren, wie Blumenthal, Seligmann und Pinkus sowie Meier und Bauer, halten beide für gleichwertig.

Auch Boas findet „die Prozentzahlen, die er mit alkoholischem Herzextrakt erreicht hat, für ebenso gut, wie die besten Statistiken derjenigen Autoren, die mit syphilitischen Organen arbeiten“.

Daß aus menschlichem Herzmuskel gute Extrakte zu ererhalten sind, geht aus Tabelle II hervor, sie reichen aber bei weitem nicht heran an die Luesleberextrakte (s. Tabelle IV und V), sowie an die von mir empfohlenen Normalnierenextrakte (s. Tabelle II, III, VIII).

Es war nun von Interesse, festzustellen, ob Nierenextrakte ähnliche konstante und übereinstimmende Wirkung zeigen wie Herzmuskelextrakte, ob ferner Nieren verschiedener Individuen sich gleich oder verschieden verhalten und ob Veränderungen der Niere, insbesondere Verfettung, die Wirkung des daraus gewonnenen Antigens verbessern oder verschlechtern.

Zur Entscheidung dieser Fragen wurden Nieren von Leichen mit folgender Todesursache gewählt:

Leiche B. Eitrige Rippenfell- und Bauchfellentzündung: Nieren ohne Befund.

Leiche F. Kopfschuß, Gehirnabszeß, Lungenentzündung: Nieren ohne Befund.

Leiche H. Nephritis: Niere mäßig stark verfettet.

Leiche N. Nephritis: Nieren stark verfettet.

Tabelle VIII. Normalnierenextrakte.

	Luetisches Serum						Nichtluetisches Serum			
	Extraktmenge						Extraktmenge			
T =	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,005	0,2	0,1	0,05	0,02
Niere B	+++	+++	+++	+++	+	—	+++	—	—	—
„ F	+++	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—
„ H	+++	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—
„ N	+++	+++	+++	+++	+	—	+++	—	—	—

	Luetisches Serum			
	Fallende Mengen			
S =	0,1	0,05	0,025	0,01
Niere B	+++	+++	—	—
„ F	+++	+++	+	—
„ H	+++	+++	++	—
„ N	+++	+++	—	—

Tabelle VIII zeigt, daß die aus den Nieren B, F, H und N gewonnenen Extrakte sowohl im Titer- wie im Sensibilitätswert übereinstimmen: Nierenextrakte zeigen demnach ebenso gleichmäßige Wirkung wie Herzmuskelextrakte, und pathologische Veränderungen des Organs bewirken weder eine Verbesserung noch eine Verschlechterung des daraus gewonnenen Extraktes.

In der Folge legten wir uns die Frage vor, ob durch weitgehendste Erschöpfung des Organs an wirksamer Substanz die Brauchbarkeit der Normalorganextrakte noch weiter gesteigert werden könnte. Wir gingen in der Weise vor, daß wir das in Frage kommende Organ in bekannter Weise auf alkoholischen Extrakt verarbeiteten, nach dem Filtrieren den auf dem Filter verbliebenen Rückstand im Vakuum trockneten und nun 12 Stunden lang mit Aether im Soxleth erschöpften. Nach Verflüchtigung des Aethers wurde der Rückstand mit dem zuerst gewonnenen alkoholischen Auszug aufgenommen, 1 Stunde lang geschüttelt und dann filtriert.

Da wir bei fast allen Organen mit der modifizierten Arbeitsweise wesentlich günstigere Resultate erzielten, als beim Auszug der Organe mit Alkohol allein, so müssen wir annehmen, daß als hemmendes

Agens nicht nur ein alkohol-, sondern auch ein ätherlöslicher Anteil in Betracht kommt. Wir behalten uns weitere Untersuchungen in dieser Richtung, besonders auch mit syphilitischen Lebern vor.

Das Bestreben, Antigene zu erhalten, die in möglichst niederen Dosen starke Hemmung aufweisen, hat dazu geführt, Normalorganextrakten einen gewissen Gehalt an Cholesterin zu geben.

Walker und Swift haben Menschenherzextrakt mit 0,4 Proz., Sachs Rinderherzextrakt mit 0,5—1 Proz. Cholestenn empfohlen. M. Stern wendet neben Menschenherzextrakt ohne Cholesterin cholesterinierten Rinderherzextrakt mit einem Gehalt an Cholesterin im Verhältnis $^{1}/_{10000}$ an.

Mc Clure (7), der mit dem Extrakt von Walker und Swift arbeitet, findet bei behandelten und Spätformen von Lues mehr positive Resultate als mit Luesleberextrakten, weniger dagegen bei unbehandelten Fällen von sekundärer und latenter Syphilis.

Ein Zusatz von Cholesterin, wie er von M. Stern benutzt wird, bewirkt in dieser Verdünnung kaum eine stärkere Reaktion als ohne denselben, dagegen vermag der von Sachs angegebene Zusatz die Stärke des Extraktes ganz erheblich zu beeinflussen (s. Tabelle IX).

Tabelle IX. Modifizierte Organextrakte.

	Luetisches Serum						Nichtluetisches Serum			
	Extraktmenge						Extraktmenge			
T =	0,2	0,1	0,05	0,02	0,01	0,05	0,2	0,1	0,05	0,02
Menschenherzmuskel	+++	+++	+++	—	—	—	+++	—	—	—
dgl., cholest. nach Stern	+++	+++	+++	+	—	—	+++	—	—	—
dgl., cholest. nach Sachs	+++	+++	+++	+++	+++	—	+++	—	—	—
Menschenniere	+++	+++	+++	+++	—	—	+++	—	—	—
dgl., cholest. nach Stern	+++	+++	+++	+++	+	—	+++	—	—	—
dgl., cholest. nach Sachs	+++	+++	+++	+++	+++	—	+++	—	—	—
Meerschw.-Herzmuskel	+++	+++	+++	++	—	—	+++	—	—	—
dgl., cholest. nach Stern	+++	+++	+++	++	—	—	+++	—	—	—
dgl., cholest. nach Sachs	+++	+++	+++	+++	+	—	+++	—	—	—
Rinderherz	+++	+++	+++	+++	+	—	+++	—	—	—
dgl., cholest. nach Stern	+++	+++	+++	+++	++	—	+++	—	—	—
dgl., cholest. nach Sachs	+++	+++	+++	+++	+++	—	+++	—	—	—
Menschenniere, Aethermethode	+++	+++	+++	+++	+++	—	+++	—	—	—
Rinderherz, Aethermethode	+++	+++	+++	+++	+++	—	+++	—	—	—
Glyzerin-Luesleberextrakt C nach Goss	+++	+++	+++	++	—	—	+++	—	—	—

Allerdings erfolgt auch hier die Verbesserung des Extraktes nur in ökonomischer Richtung: die Gebrauchsdosis wird im Verhältnis zum nicht cholesterinierten Normalorganextrakt im günstigsten Fall um das Fünffache herabgedrückt, eine Verschärfung Luesantikörpern gegenüber wird durch Cholesterinzusatz nicht erreicht, der Sensibilitätswert verhält sich sowohl bei cholesterinierten wie nicht cholesterinierten Organextrakten gleich (s. Tabelle X).

Tabelle X.

	Luetisches Serum							
	Fallende Mengen							
S =	0,1	0,05	0,025	0,01	0,008	0,005	0,003	0,001
Menschenherzmuskel	+++	+++	++	—	—	—	—	—
dgl., cholest. nach Stern	+++	+++	+	—	—	—	—	—
dgl., cholest. nach Sachs	+++	+++	++	—	—	—	—	—
Menschenniere	+++	+++	—	—	—	—	—	—
dgl., cholest. nach Stern	+++	+++	—	—	—	—	—	—
dgl., cholest. nach Sachs	+++	+++	—	—	—	—	—	—
Meerschw.-Herzmuskel	+++	+++	+	—	—	—	—	—
dgl., cholest. nach Stern	+++	+++	—	—	—	—	—	—
dgl., cholest. nach Sachs	+++	+++	++	—	—	—	—	—
Rinderherz	+++	+++	+	—	—	—	—	—
dgl., cholest. nach Stern	+++	+++	—	—	—	—	—	—
dgl., cholest. nach Sachs	+++	+++	—	—	—	—	—	—
Menschenniere, Aethermethode	+++	+	—	—	—	—	—	—
Rinderherz, Aethermethode	+++	+++	—	—	—	—	—	—
Menschenmuskel, chol. nach Sachs	+++	+++	+++	—	—	—	—	—
Glyzerin-Luesleberextrakt C nach Goss	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—

Ebenso unmöglich erweist sich die Beeinflussung des Sensibilitätswertes durch die modifizierte Aetherextraktion der Organe (Tabelle X), auch hier zeigt sich trotz steigenden Titerwertes eine Unveränderlichkeit des Sensibilitätswertes.

Vielleicht liefert der im Vergleich mit luetischen Leberextrakten niedere Sensibilitätswert der veränderten und unveränderten Normalorganextrakte (Tabelle X) ein Glied der Beweiskette der besonders von Bruck vertretenen Theorie, daß bei der Wassermannschen Reaktion neben einer spezi-

fischen Antigen-Antikörperreaktion eine gleichfalls spezifisch verlaufende zweite Reaktion angenommen werden muß, deren Chemismus einerseits durch Lipoid (Cholesterin), anderseits durch noch unbekannte, jedoch vorzugsweise nur im Luetikerblut enthaltene Stoffe ausgelöst würde.

Diese Theorie erhält eine weitere Stütze durch die von Goss in die Praxis eingeführten glyzerinierten Luesleberextrakte.

Goss stellt seine Extrakte in der Weise her, daß luetische Lebern mit der 5—10-fachen Menge Glyzerin möglichst fein zerrieben, einige Tage bei 37° stehen gelassen und dann zentrifugiert werden.

Als Lösungsmittel für Lipoide gelten Aether, Alkohol, Chloroform, Aceton.

Glyzerin kommt demnach als Lösungsmittel für Lipoide nicht in Frage.

Es müssen also für die Auslösung des Hemmungsphänomens bei luetischen Seren andere Stoffe verantwortlich gemacht werden.

Berücksichtigt man ferner, daß wohl aus luetischen Lebern, nicht aber aus Normalorganen brauchbare wässerige Ex-

Tabelle XI. Quantitative Ermittlung der von den

Verdünnung des Ambozeptors:	1:200	1:400	1:600	1:800	1:1000	1:2000	1:3000	1:3200
Vorversuch 1: ohne Extrakt	—	—	—	—	—	—	+	+
mit Luesleberextrakt 2	—	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
„ „ 3	—	+	+	+	++	+++	+++	+++
Menschenherzextrakt	—	—	—	—	—	—	+	+
Rinderherzextr. mit Cholest.	—	—	—	—	+	++	++	⦶
Vorversuch 2: ohne Extrakt	—	—	—	—	—	—	—	—
Niere, cholesteriniert	—	—	—	—	+	∓	∓	⊕
Meerschw.-Herzmuskel	—	—	—	—	—	—	—	+
Luesleberextrakt 10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Wässeriger Luesextrakt X	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Glyzerinextrakt C nach Goss	—	—	—	+	+	++	++	+++

Zeichenerklärung: — = komplette Hämolyse; + = inkomplette Kuppe (stärkere Hemmung); ++ = Kuppe (starke Hemmung); ⦶ = +++ = vollständige Hem-

1) Hauptversuch mit der gefundenen Ambozeptordosis nicht durch-

trakte zu erzielen sind, so muß man, da Lipoide ausscheiden, bei den wässerigen und glyzerinierten Luesleberextrakten eine ausschließliche Antigen-Antikörper-, bei den alkoholischen Normalorganextrakten eine ausschließliche Lipoid-, bei den alkoholischen und Aceton-Luesleberextrakten endlich eine Antigen-Antikörper- neben einer Lipoidreaktion annehmen.

Im allgemeinen erwiesen sich die nach der Vorschrift von Goss (8) hergestellten Extrakte als brauchbar. Sowohl Titer- wie Sensibilitätswert erwiesen sich niedriger als der wässeriger und alkoholischer Luesleberextrakte; auch mußte der Titer bei der Verwendung für den Hauptversuch stets höher genommen werden, wie der bei der Titerbestimmung ermittelte, da die Extrakte hin und wieder zu Ausschlägen nach der negativen Seite neigten.

Wässerige und alkoholische Luesleberextrakte sind nach wiederholten Vergleichsuntersuchungen des Verfassers glyzerinierten Luesleberextrakten zweifellos überlegen.

wirksamen Extrakten absorbierten Komplementmengen.

1:3400	1:3600	1:3800	1:4000	1:5000	1:6000	1:7000	1:8000	1:9000	1:10 000	Ambozeptorverdünnung für den Hauptversuch
+	∓	⊕	++	++	⦶	⦶	+++	+++	+++	1:2000
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	[1]
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	[1]
∓	∓	∓	⊕	++	++	⦶	+++	+++	+++	1:2000
⦶	⋕	⋕	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1:800
+	+	∓	∓	∓	∓	++	++	+++	+++	1:3200
++	++	++	⦶	⋕	+++	+++	+++	+++	+++	1:800
+	+	∓	++	++	++	++	⦶	+++	+++	1:3000
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	[1]
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	[1]
+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	1:600

Hämolyse; ∓ = kleine Kuppe (deutliche Hemmung); ⊕ = mäßig große noch stärkere Hemmung; ⋕ = große Kuppe (sehr starke Hemmung): mung der Hämolyse.

führbar.

In einer neueren Arbeit befürwortet M. Stern (9) die Bestimmung der Komplementmengen, welche durch die im Hauptversuch jeweils einzustellenden Extrakte gebunden werden, im Vorversuch. Neben Menschenherzextrakt benutzt die Autorin für ihre Versuche cholesterinierten Rinderherzextrakt, und zwar in der Verdünnung 1 : 6.

Da anzunehmen ist, daß analog den von Thomsen an menschlichen Herzextrakten und den von mir an menschlichen Nierenextrakten gefundenen übereinstimmenden Resultaten auch Rinderherzextrakte nicht oder doch nur wenig in der Wirksamkeit differieren, überschreitet M. Stern für cholesterinierten Rinderherzextrakt den Titer um das Vier- bzw. Achtfache (s. Tabelle IX).

Meine Vermutung, daß der beträchtliche Antigenüberschuß verantwortlich zu machen sei für die recht erheblichen Mengen von absorbiertem Komplement, war deshalb a priori nicht von der Hand zu weisen. Wir überzeugten uns jedoch in zwei Versuchsreihen, in die wir die als besonders wirksam erkannten Antigene unter Einhaltung der genau festgestellten Titergrenze einstellten, daß die absorbierten Komplementmengen bei manchen Extrakten trotzdem recht hohe waren (Tabelle XI). Am höchsten bei Luesleberextrakten, hoch bei cholesterinierten, fast nicht in Erscheinung tretend bei nichtcholesterinierten Normalorganextrakten.

Bei Verwertung der im Vorversuch nach der Sternschen Methode festgestellten Befunde im Hauptversuch mußten wir bei unseren an Hunderten von Seren als absolut zuverlässig erprobten Luesleberextrakten bei Anwendung der gefundenen einfachen Ambozeptordosis die Erfahrung machen, daß die Lösung nicht nur einen äußerst schleppenden Verlauf nahm, daß vielmehr Sera, die vom selben Extrakt mit dem üblichen Ambozeptorüberschuß als sicher negativ angezeigt worden waren, positiv reagierten. Ich bemerke, daß die Extrakte stets auf Eigenhemmung, das Komplement stets auf Eigenambozeptor und Blut und Kochsalzlösung auf Isotonie untersucht worden waren. (Im Protokoll wegen Platzmangel nicht vermerkt.)

Stern sieht solche Fälle vor und gibt zu, daß es dann nicht möglich ist, die Ambozeptorenkonzentration für den Versuch exakt zu bestimmen.

„Welche Ambozeptormenge man unter diesen Umständen verwendet, lernt man sehr schnell aus der Praxis und der Erfahrung."

Man fragt sich da unwillkürlich, wozu erst eine so umständliche, die psychische Kraft und Aufmerksamkeit des Untersuchers ganz enorm in Anspruch nehmende, zeitraubende Untersuchung, wenn am Schluß derselben doch nur geschätzt wird und schließlich falsche Resultate erhalten werden? Viel lieber den üblichen Ambozeptorüberschuß, Arbeitsvereinfachung und unter hundert Resultaten vielleicht einmal eines nach der negativen, statt nach der positiven Seite!

Zusammenfassung.

1) Wässerige Aufschwemmungen menschlicher oder tierischer Organe sind zur Anstellung der Wassermannschen Reaktion auch in feinster Suspension unbrauchbar.

2) Unbrauchbare wässerige Normalorganextrakte lassen sich in brauchbare alkoholische Extrakte überführen, ebenso verhalten sich wässerige Luesleberextrakte, die unspezifische Hemmungserscheinungen zeigen.

3) Bei der Bewertung eines Extraktes ist nicht nur die Bestimmung des Titer-, sondern auch die Feststellung des Sensibilitätswertes wichtig.

4) Bei Luesleberextrakten überwiegt stets der Sensibilitäts-, bei Normalorganextrakten stets der Titerwert.

5) Menschliche Niere liefert sehr brauchbare Extrakte.

6) Luesleberextrakte sind Normalorganextrakten weit überlegen und bei quantitativer Auswertung von Seren unersetzlich.

7) Acetonextrakte zeigen unspezifische Hemmungserscheinungen.

8) Sie lassen sich einigermaßen in brauchbare alkoholische Extrakte überführen.

9) Nierenextrakte, aus verschiedenen Nieren hergestellt, zeigen auch bei pathologischer Veränderung des Organs übereinstimmende Wirkung.

10) Als hemmendes Agens kommt nicht nur ein alkohol-, sondern auch ein ätherlöslicher Anteil in Betracht.

11) Cholesterinzusatz im Verhältnis $^1/_{10000}$ bewirkt keine, $^1/_{100}$ eine deutliche Veränderung des Titerwertes von Normalorganextrakten.

12) Durch Cholesterinzusatz wird der Sensibilitätswert bei Normalorganextrakten nicht beeinflußt, ebenso wird durch Aetherextraktion der Organe nur der Titer-, nicht der Sensibilitätswert getroffen.

13) Glyzerinextrakte nach Goss zeigen schwächere Wirkung wie wässerige oder alkoholische Luesleberextrakte.

14) Die Bestimmung der vom Antigen absorbierten Komplementmengen liefert mitunter sehr erhebliche Werte; Einstellung der einfachen Ambozeptordosis in den Hauptversuch ergibt bei Normalextrakten gute, bei cholesterinierten Extrakten brauchbare, bei Luesleberextrakten unbrauchbare Resultate.

Literatur.

1) Elias, Neubauer, Porges und Salomon, Wiener klin. Wochenschrift, 1908, No. 18 u. 21.
2) Levaditi et Yamanouchi, Compt. rend., T. 2, 1907.
3) Schatiloff und Isabolinski, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 1, 1908.
4) Schmincke, Münch. med. Wochenschr., Bd. 62, No. 28.
5) Ciaccio, Archiv f. exper. Pathol., Bd. 78, 1915.
6) Kolle und Stiner, Deutsche med. Wochenschr., 1911, No. 38.
7) Mc Clure, Journ. of med. Research, 1914.
8) Goss, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 17, 1913.
9) Marg. Stern, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 22, 1914, Heft 2.

[Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für experimentelle Therapie, Dahlem, Bakteriologische Abteilung (Direktor: Geheimrat Prof. Dr. A. von Wassermann).]

Die Bedeutung der Salze für die spezifische Agglutination.

Von **Carl Lange.**

(Eingegangen bei der Redaktion am 1. Oktober 1915.)

Die vorliegenden Untersuchungen über die Bedeutung der Salze für die spezifische Agglutination gingen von rein praktischen Gesichtspunkten der Typhusdiagnose aus. Gelegentlich von zahlreichen Untersuchungen auf Widalsche Reaktion gegen Typhus- und Paratyphus war es uns eine Zeitlang unmöglich, Paratyphus B-Stämme zu erhalten, die nicht das bekannte Phänomen der Spontanagglutination in Kochsalz zeigten, auf das zuerst Nicolle hingewiesen hat, und unsere Bemühungen gingen darauf aus, Stämme, die dies Phänomen in ganz ausgesprochener Weise zeigten, trotzdem zur praktischen Serodiagnose verwerten zu können, was sicher von Bedeutung für die Serodiagnose der Paratyphuserkrankungen wäre; denn jedem, der häufig mit derartigen Untersuchungen zu tun hat, dürfte bekannt sein, welche Unannehmlichkeiten die Spontanagglutination der Paratyphus B-Stämme mit sich bringt.

Um diesen Punkt gleich vorwegzunehmen, so gelang uns die Beseitigung der Spontanagglutination bei Paratyphus B durch Verwendung einer ganz verdünnten Sodalösung an Stelle der physiologischen Kochsalzlösung, die meist gebraucht wird. Wir gingen dabei von der Voraussetzung aus, daß die Globuline, deren Bedeutung für die Typhus- sowie auch für die meisten Immunitätsreaktionen jetzt schon allgemein anerkannt wird, zu ihrer Lösung entweder Neutralsalze bedürfen, was in diesem Falle wegen der ausfällenden Wirkung auf die Paratyphusemulsion vermieden werden sollte, oder daß man denselben Zweck auch durch geringe Mengen von Laugen, am besten verdünnter Sodalösung, erreichen kann.

Wir konnten auch bald sehen, daß, wenn man Seren mit ganz wenig konzentrierten Sodalösungen verdünnt, man die physiologische Kochsalzlösung für die Anstellung der Widalschen Reaktion entbehren kann. Wir machten auch gleich Paralleluntersuchungen mit Verdünnung des Serums mit destilliertem H_2O und sahen, daß unter diesen Umständen die Agglutination mit Patientenserum meist ausblieb, mit hochwertigem Immunserum aber meist eintrat, wenn auch in bedeutend schwächerem Grade als bei Verwendung von physiologischer Kochsalzlösung.

Die Spontanagglutination der Paratyphus B-Bakterien ist eine höchst auffallende Erscheinung, die nach unseren, wenn auch nicht sehr ausgedehnten, bisherigen Erfahrungen (es standen uns keine frischen Paratyphusstämme zur Verfügung) eventuell sogar zu differentialdiagnostischen Zwecken Verwendung finden kann.

Wir hoffen eventuell später, falls uns genügend Material zur Verfügung steht, noch über diesen Punkt berichten zu können, da es uns möglich und sogar wahrscheinlich erscheint, daß man auf diese Weise eine schnelle Unterscheidung von Paratyphus A und B ermöglichen kann.

Mischt man eine Normalöse (= 2 mg Bakterienrasen, ungefähr entsprechend dem Oesenmaßstab 2 nach Czaplewski) mit 1 ccm Kochsalzlösung, so sieht man meist nur im Agglutinoskop eine deutliche „Agglutination" der Bakterien, die, worauf wir großen Wert legen, in keiner Weise von schwächeren Graden einer spezifischen Serumagglutination zu unterscheiden sind.

Bedeutend sinnfälliger wird das Phänomen, wenn man ein ganzes 24-stündiges Schrägröhrchen von Paratyphus B mit 2 bis 5 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung abschwemmt und dann ruhig stehen läßt. Innerhalb weniger Stunden setzt sich die ganze Bakterienmenge vollkommen zu Boden, unter höchst scharfer Abgrenzung von der darüber stehenden Flüssigkeit. Typhus- oder Enteritis Gärtner-Kulturen zeigen dies Phänomen nicht, auch Kulturen von Paratyphus A nur wenig angedeutet, so daß es unseres Erachtens eventuell sogar möglich erscheint, auf diese einfache Weise innerhalb ganz kurzer Zeit eine Unterscheidung zwischen Paratyphus A und B herbei-

zuführen; eine Bestätigung an größerem Material bleibt natürlich abzuwarten.

Wir hatten nachträglich Gelegenheit, dies Phänomen an einer größeren Reihe von Paratyphus B-Stämmen zu prüfen, die wir der Liebenswürdigkeit eines anderen Laboratoriums verdankten. Während nun die ganzen Stämme unserer Sammlung ausnahmslos das oben beschriebene Phänomen in ausgesprochener Weise zeigten, fanden wir es bei keinem der neuen Stämme. Es müssen wohl Differenzen in der Bereitung der Nährböden, die sich nicht ohne weiteres übersehen lassen, hierbei eine Rolle spielen. Der von uns verwendete Nähragar war mit Pferdefleischwasser, Wittepepton und 3 Proz. Agar bereitet. Zu bemerken ist noch, daß das Phänomen durch stark alkalische Nährböden schon in der ersten Kulturgeneration herabgesetzt werden kann.

Es scheint nun auf den ersten Blick für dies Phänomen die Erklärung am nächsten zu liegen, diese „Agglutination“ für eine einfache Sedimentierung zu halten; dem ist aber keineswegs so, denn in destilliertem Wasser erreicht dieser Vorgang innerhalb von vielen Tagen auch nicht annähernd diese Sinnfälligkeit; eine haarscharfe Abtrennung eines Bakteriensediments von einer fast klaren überstehenden Flüssigkeit kommt auf diese Weise nicht zustande.

Wir müssen also aus diesen verschiedenen Ergebnissen schließen, daß die Paratyphusbakterien unter gewissen Umständen, die wir nicht näher präzisieren können, durch den geringen Kochsalzgehalt einer physiologischen Kochsalzlösung agglutiniert oder, sagen wir, vorläufig ausgefällt werden.

Friedberger unterscheidet die spezifische Agglutination von der Sedimentierung durch die Beschaffenheit des gebildeten Sediments, das in beiden Fällen keineswegs identisch ist, wenn auch äußerlich der Bodensatz der zusammengeballten Keime kaum zu unterscheiden ist. Im Aufbau des Sediments zeigt sich ein wesentlicher Unterschied. Wenn man den Bodensatz durch leichtes Umschütteln zerstört oder auch nur das Röhrchen schräg hält, so sieht man da, wo echte Agglutination vorliegt, den Bodensatz sich in eine Unmenge von kleinen Klümpchen auflösen, die als solche in der Flüssigkeit umherschwimmen und auch bei relativ starkem Schütteln erhalten

bleiben. Die Sedimentierung führt nicht zur Entstehung solcher Ballen, sondern die einzelnen Individuen bleiben getrennt. Friedberger stellt diese Unterscheidung wohl hauptsächlich auf im Hinblick auf die Untersuchungen vom Emmerich und Löw, die in alten Bouillonkulturen Agglutination feststellen wollten. Friedberger (Centralbl. f. Bakt., Bd. 30) und ebenso Müller (Centralbl. f. Bakt., Bd. 28) auf Grund von mikroskopischen Untersuchungen, sind der Ansicht, daß eine spezifische Agglutination und die Sedimentierung in den Kulturen von Emmerich und Löw nicht identisch ist.

Die Trennung von Friedberger betrifft unseres Erachtens keinen wesentlichen, als vielmehr einen quantitativen Unterschied. Das Sediment, wie es sich in diesen Aufschwemmungen von Paratyphus B-Kulturen in wenigen Stunden bildet, hat zwar die Eigenschaften, die Friedberger als wesentlich für Sedimentierung ansieht, es ist dies aber lediglich eine Sache der Definition, wo man den Begriff „wirklicher Agglutination" abgrenzen will; im Wesen der Agglutination können wir die Bildung makroskopisch sichtbarer Bakterienklumpen nicht als eingeschlossen ansehen, die Bildung von sicheren Bakterienhäufchen, die mikroskopisch — inklusive Unbeweglichkeit — oder im Agglutinoskop festzustellen sind, genügt unseres Erachtens, um das Phänomen tatsächlich unter den Begriff der Agglutination zu subsumieren, von dem es sich nicht wesentlich unterscheidet. Die Kochsalzagglutination von Paratyphus B unterscheidet sich außerdem noch dadurch von den Sedimentierungen bei Emmerich und Löw, daß sie fast ebenso schnell in die Erscheinung tritt wie die spezifische Serumagglutination, während dort zur Entwicklung des Phänomens mindestens mehrere Tage nötig sind.

Bemerken möchten wir hier gleich, daß diese Ausfällung von Paratyphus B in Kochsalzlösung durch Zusatz verschiedener Kolloide, die zur Stabilisierung von Metallkolloiden gebräuchlich sind, z. B. Nutrose, Gelatine, Gummi arabicum etc., nicht aufgehoben wird. Im Gegensatz tritt z. B. durch Zugabe von verdünnter Gelatine eine recht deutliche Beschleunigung und Verschärfung der Ausfällung auf.

Wir führen diese Tatsache hauptsächlich deshalb hier an weil sie uns geeignet erscheint, eventuell in eine gewisse Ver-

bindung mit den sogenannten Normalagglutininen gebracht zu werden, da bei Verwendung größerer Eiweißmengen Bakterienagglutinationen zustande kommen können, die etwa mit der spezifischen Agglutination durch hochwertige Immunseren nichts als den äußeren Anschein gemeinsam zu haben brauchen.

Diese Kochsalzagglutination schädigt die Vitalität der Paratyphusbakterien in keiner Weise, ebensowenig wie agglutinierte Bakterien sonst in ihrer Vitalität geschädigt sind, sei es nun, daß diese Agglutination durch spezifische Seren oder auch z. B. durch Säureagglutination herbeigeführt wird. Wenn man diese durch Kochsalz agglutinierten Paratyphusbakterien unter dem Agglutinoskop betrachtet, so unterscheidet sich diese Reaktion in keiner Weise von einer Serumagglutination, höchstens vielleicht durch die Größe der gebildeten Agglomerate; der Untergrund erscheint vollkommen klar, auch mikroskopisch bieten die durch Kochsalz agglutinierten Bakterien dasselbe Bild wie die durch spezifisches Serum agglutinierten; man sieht kleine Häufchen von zusammengeballten, vollkommen unbeweglichen Bakterien, nur makroskopisch unterscheidet sich das Sediment von einer starken spezifischen Agglutination. Die gebildeten Flocken sind so klein, daß sie sich nach Aufschütteln der Lösung nicht sofort wieder absetzen, wie bei einer stark positiven Serumagglutination, sondern längerer Zeit dazu bedürfen. Man sieht aber auch hierbei noch makroskopisch die eingetretene Verklumpung.

Nach dem oben Gesagten möchten wir darauf hinweisen, daß durch physiologische Kochsalzlösung ein Phänomen an Paratyphus B hervorgerufen werden kann, das sich im wesentlichen mit der spezifischen Serumagglutination deckt, jedenfalls bei der praktischen Serumdiagnose nicht unterschieden werden und zu Verwechslungen führen kann; in destilliertem H_2O oder verdünnter Sodalösung tritt dies Phänomen nicht auf.

Haben wir somit das praktische Bedürfnis gekennzeichnet, das uns veranlaßte, diese Verhältnisse genau zu analysieren, so wollen wir nun auf die Ergebnisse unserer weiteren Untersuchungen zu sprechen kommen, die das Verhältnis der Salze zur spezifischen Agglutination durch Immunserum betreffen.

Von älteren Versuchen und Theorien ist am bekanntesten die Versuchsanordnung von Bordet, die auch später die

Grundlage wurde für weitere Untersuchungen, die speziell die Bedeutung der Salze für die Agglutination studierten.

Bordets grundlegender Versuch besteht darin, daß er eine Bakterienaufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung mit homologem Immunserum agglutinierte. Schwemmte er nun das agglutinierte Sediment in destilliertem H_2O wieder auf, so trat keine Desagglutination ein; dieselbe konnte jedoch hervorgerufen werden, wenn Bordet der Aufschwemmung etwas NaCl zufügte. (Auf die mögliche Erklärung dieses Versuchsergebnisses können wir erst später eingehen.)

Bordet kam auf Grund dieses Versuches zu der Vorstellung, daß der Vorgang der Agglutination sich in zwei Phasen trennen lasse, die erste wäre die Fixation des Agglutinins an die agglutinable Substanz der Bakterien, die zweite wäre dann ein physikalischer Vorgang von mehr unspezifischer Natur, die Ausflockung der spezifisch beladenen Bakterien durch das Kochsalz. Den letzteren Vorgang setzt Bordet in Parallele mit der Ausflockung von Tonsuspensionen durch Kochsalz, und er nimmt an, daß bei dem Vorgange der Agglutination Veränderungen vor sich gehen, die auf Elemente, welche in diesem Momente noch getrennt sind, so einwirken, daß ihre Eigenschaften der Molekularattraktion denen des suspendierten Tones vergleichbar werden.

Bordet hält das Phänomen der Agglutination dem der Koagulation für nahe verwandt, ohne allerdings zu berücksichtigen, daß diese Vorgänge bei der Eiweißkoagulation meist irreversibel sind, während er selbst durch seinen einen Versuch demonstriert, wie man eine gewisse Reversibilität des Agglutinationsvorganges demonstrieren kann.

Seine Erklärung, daß die Agglutinine, indem sie sich auf die agglutinable Substanz der Bakterien fixieren, die Molekularattraktion modifizieren, welche diese Elemente, sei es unter sich, sei es mit der umgebenden Flüssigkeit verbinden, ist rein hypothetisch, und wir gehen hier deshalb sowohl auf diese Theorie wie auf das eigentliche Wesen der Agglutination nicht weiter ein, sondern beschränken uns darauf, die Beziehungen der Salze zum Phänomen der Agglutination zu eruieren.

Bordets Versuch ist auch in dieser Hinsicht nicht ausreichend, er unterscheidet eine Phase der Bindung der Agglutinine, die er aber in salzhaltiger Flüssigkeit vornimmt, von der eigentlichen Agglutination, die er dem Kochsalz zuschreibt. Zur genaueren Analyse der Verhältnisse gehört vor allem der Versuch, wie die Bindung in salzfreier Lösung vor sich geht.

Weitere Versuche in dieser Richtung wurden nun von Joos (Zeitschr. f. Hyg., Bd. 36, 1900, p. 422) unternommen, die zur Aufstellung einer neuen Theorie über die Bedeutung der Salze für das Zustandekommen der Agglutination führten. Die Versuche von Joos wurden mit einer recht komplizierten Technik durchgeführt, so daß wir näher auf diese Technik und die Berechtigung, mit der Joos zu seinen Konsequenzen gelangt, eingehen müssen, um dann auf Grund unserer eigenen Versuche, die teils eine Wiederholung der Versuche von Bordet und Joos, teils aber neue Versuche, die die Theorie von Joos als durchaus zweifelhaft erscheinen lassen, die Anschauung zu präzisieren, die wir auf Grund unserer neuen Versuchsanordnung uns über die Bedeutung der Salze für die spezifische Agglutination bilden mußten.

Joos basiert auf dem einen, oben schon angeführten Versuche von Bordet, auch er glaubte eine erste Phase der Bindung des Agglutinins an die agglutinable Substanz abgrenzen zu müssen von einer zweiten Phase des Eintretens der physikalischen Verklumpung, nur geht er einen Schrit weiter als Bordet und läßt diese Bindung in salzfreier Lösung vor sich gehen. Das erst nachträglich zugefügte Kochsalz hat seiner Auffassung nach nicht die Bedeutung, die Beziehungen zu den Molekularattraktionen zu ändern, wie dies in Bordets Hypothese ausgedrückt ist, sondern nach Joos' Auffassung ist die Rolle des NaCl „aktiv", d. h. die Agglutinationserscheinung führt sich auf eine chemische Verbindung zwischen Agglutinin und agglutinabler Substanz zurück, in die das NaCl nach festen chemischen Proportionen eintritt, so daß ein neuer Körper von spezifischem Charakter gebildet wird.

Joos kommt auf Grund seiner Experimente zu der einen Hauptthese, daß Agglutination nur eintritt beim Zusammentreffen dreier Faktoren, nämlich durch die agglutinable Substanz der Bakterien, die agglutinierende Substanz des Serums und das Salz.

Um die Bedeutung des NaCl für die Agglutination vollkommen überschauen zu können, ging Joos davon aus, sowohl das Agglutinin als auch die agglutinable Substanz in vollkommen salzfreiem Zustande — wenigstens soweit dies praktisch durchführbar ist — zu verwenden.

Wenn man eine Agarkultur irgendwelcher Bakterien mit destilliertem H_2O abschwemmt, so erhält man trotzdem keine salzfreie Lösung. Dies wird erstens verhindert durch das mitgenommene Kondenswasser, zweitens durch die Salze, die die Bakterien selbst an die Emulsionsflüssigkeit abgeben können, drittens durch die Salzmengen, die durch das Wasser während des Abschwemmens aus dem Nähragar ausgelaugt werden können. Joos hat zweifellos die Bedeutung der Salze, die die Bakterien in die umgebende Flüssigkeit diffundieren lassen, überschätzt, wie wir weiter

unten zeigen werden. Die Salzmengen im Kondenswasser spielen die Hauptrolle und dürfen nun auch allerdings bei den vorliegenden Untersuchungen keineswegs vernachlässigt werden.

Um eine salzfreie Emulsion von Bakterien zu erhalten, ging Joos auf zweierlei Weise vor. Entweder wurden die abgeschwemmten Bakterien an der Zentrifuge mit sterilem destillierten H_2O mehrere Male ausgewaschen, was bei vielen Bakterienarten sehr umständlich ist, oder aber die Salze wurden durch Dialyse entfernt. Wir konnten uns, ebenso wie Friedberger, der die Versuche Joos' einer Nachprüfung unterzog (Centralbl. f. Bakt., Bd. 30), davon überzeugen, daß die Vitalität von Bakterien durch eine länger dauernde Dialyse nicht herabgesetzt wird. Die Bakterien behalten ihre Beweglichkeit, soweit sie überhaupt beweglich sind, und sind noch kultivierbar.

Stehen nun der Herstellung einer praktisch herstellbaren salzfreien Bakterienemulsion auf die eine oder andere Weise keine Schwierigkeiten entgegen, so muß bei der Herstellung eines vollkommen salzfreien Serums auf einen Punkt die Aufmerksamkeit gelenkt werden, den weder Joos noch Friedberger bei seiner Nachprüfung überhaupt erwähnt.

Joos gibt an, daß es bei einem hochwertigen agglutinierenden Serum häufig genügt, dasselbe mit destilliertem H_2O auf die gewünschte Verdünnung zu bringen, um die Wirkung der aufgelösten Salze nicht mehr fühlbar erscheinen zu lassen. Wenn das Serum nicht so hochwertig war, hat Joos — und ebenso Friedberger — dasselbe vor Benutzung dialysiert.

Joos findet nun, daß ein Serum durch mehrere Tage hindurch ausgeführte Dialyse nichts von seiner agglutinierenden Kraft einbüßt, höchstens verläuft die Agglutination etwas langsamer.

In welchen Verdünnungen Joos und Friedberger ihr agglutinierendes Serum der Dialyse unterzogen haben, geben beide Autoren nicht an. Wir selbst verwendeten das zu dialysierende Immunserum — es handelte sich bei allen Versuchen um sehr hochwertige Typhus- und Cholera-Immunseren — im konzentrierten Zustande, um möglichst alle Spuren von Kochsalz zu entfernen, so daß wir bei einer nachträglichen Verdünnung des Serums auf mehrere Tausend mit destilliertem H_2O wirklich annehmen konnten, daß merkliche Mengen von Kochsalz nicht mehr vorhanden wären. Auf die Art, wie wir das verwendete Serum auf Kochsalzfreiheit prüften, kommen wir weiter unten zurück.

Nun ist es eine ganz bekannte Tatsache, die selbstverständlich auch bei unseren Versuchen in die Erscheinung trat, daß bei einem Serum, das bis zur möglichsten Salzfreiheit der Dialyse unterzogen wird, ein Teil der Globuline ausfällt, und so ergaben auch unsere agglutinierenden Seren schon nach

einer kurzdauernden Dialyse eine ganz massige Trübung. Wir überzeugten uns natürlich in jedem Falle, daß die dialysierten Seren nicht bakteriell verunreinigt waren; es genügte uns zu diesem Zweck ein gefärbter Ausstrich, da ja bei der meist kurzen Dauer der Versuche nur gröbere bakterielle Verunreinigungen ausgeschaltet werden müssen. Eine — auf diese Weise geprüfte — bakterielle Verunreinigung ließ sich jedesmal mit Leichtigkeit vermeiden, wenn alle Utensilien in sterilisiertem Zustande verwendet wurden und die Dialyse in einem gut gekühlten Eisschrank vorgenommen wurde. Wir bemerken hier noch, daß die von uns verwendeten Immunseren mit Karbolsäure versetzt waren, wir glauben jedoch diesen Umstand für die vorliegenden Untersuchungen vernachlässigen zu können, da jedenfalls die Karbolsäure bei dem häufigen Wasserwechsel bei der Dialyse mit den Salzen entfernt wurde.

Es entstand nun, nachdem das Serum durch Dialyse salzfrei gemacht war, die Schwierigkeit, wie die durch Salzmangel ausgefallenen reichlichen Globuline bei einer Verdünnung des dialysierten Serums mit destilliertem H_2O für die Agglutination mit in Rechnung gezogen werden sollten. Bei Joos und Friedberger fehlen jegliche Angaben über diesen Punkt.

Wir fanden in der Literatur nur einen diesbezüglichen Hinweis, und zwar von Paltauf (Kolle-Wassermann, Handbuch, Bd. 2). Paltauf ist der Ansicht, daß die Unlöslichkeit einer bestimmten Fraktion der Globuline in destilliertem H_2O nur für stärkere Konzentrationen gelte, und daß bei sehr starken Verdünnungen, wie sie bei hochwertigen Immunseren meist in Frage kommen, auch diese Globuline in destilliertem H_2O löslich sind. Aus einer von Paltauf angegebenen Versuchsanordnung geht unseres Erachtens hervor, daß er annimmt, daß diese Globuline einer zu ihrer Menge im Verhältnis stehende Menge Neutralsalze bedürfen, um in gelöstem Zustande zu bleiben, und daß man diese in beliebiger Weise mit H_2O verdünnen könne, ohne daß die Globuline wieder ausfallen.

Nach allgemein gültiger Auffassung über die Löslichkeit der Globuline trifft dies aber nicht zu. Bis zu einer Verdünnung des dialysierten Serums von 1:500 bis 1:1000 mit

destilliertem H_2O kann man eine deutliche Trübung durch die ungelösten Globuline mit bloßem Auge wahrnehmen, bei stärkeren Verdünnungen bleibt die Trübung unter der Grenze des Wahrnehmbaren, ebenso wie eine gekochte Eiweißlösung in sehr starker Verdünnung keine Ausflockung mehr mit bloßem Auge erkennen läßt, ohne daß man berechtigt wäre, anzunehmen, daß gekochtes und angesäuertes Eiweiß in starker Verdünnung in Lösung bleibt. Es unterbleibt in diesem Falle lediglich das Phänomen der Ausflockung. Was nun die Löslichkeitsverhältnisse der wasserunlöslichen Globuline betrifft, so bestehen Differenzen, je nachdem man die Globuline durch Neutralsalze oder etwa durch Alkalien (z. B. Sodalösung) in Lösung hält. Bei einer Lösung von Globulinen in Neutralsalzen (z. B. in NaCl) kommt es auf das Prozentverhältnis der Salzlösung an. Man braucht eine mindestens 0,3—0,4-proz. NaCl-Lösung, um Globuline in Lösung zu halten. Verdünnt man diese Lösung nachträglich weiter mit destilliertem H_2O, so fallen die Globuline wieder aus, und man kann selbstverständlich nicht annehmen, daß dies Ausfallen der Globuline bei einer Serumverdünnung von über 1:1000 sich durch eine Trübung bemerkbar machen soll. Anders liegen die Verhältnisse, wenn man die wasserunlöslichen Globuline durch Soda in Lösung bringt. Hierbei entspricht einer bestimmten Menge Globuline eine bestimmte — und zwar eine sehr geringe — Menge Soda. Ist diese Menge zugegeben, so kann man die Lösung beliebig mit destilliertem Wasser verdünnen, ohne daß die Globuline wieder ausfallen.

Kommen wir nun auf unsere Bemühungen zurück, zu dem fraglichen Versuch ein vollkommen salzfreies Serum zu verwenden. Das ausdialysierte Serum hat eine Menge Globuline ausfallen lassen, die bei einer Verdünnung des Serums mit destilliertem H_2O für die Agglutination nicht in Betracht kommen können, da die wasserunlöslichen Globuline bei dieser Versuchsanordnung nicht gelöst sind und folglich auch nicht auf die Bakterien einwirken können.

Zuerst war nun nötig, die Rolle festzustellen, die diese wasserunlöslichen Globuline bei der Agglutination spielen. Wir betonen, daß die früheren Untersuchungen, die sich mit

der Bedeutung der Salze für die Agglutination beschäftigt haben, diese Frage vollkommen unberücksichtigt ließen.

Unsere Versuchsanordnung war nun so, daß wir konzentriertes Immunserum steril gegen häufig gewechseltes destilliertes H_2O dialysierten. Nach einiger Zeit war das Serum vollkommen trübe von ausgefallenen Globulinen. Wir trennten nun die ungelösten Globuline durch Zentrifugieren vom übrigen Serum und prüften beide Fraktionen auf ihre agglutinierenden Fähigkeiten. Es ergab sich, daß das Serum, aus dem die unlöslichen Globuline abzentrifugiert waren, mit NaCl versetzt, homologe Bakterien agglutinierte. — Die wasserunlöslichen Globuline konnten nur nach Lösung auf ihre agglutinierende Fähigkeit geprüft werden, löste man das Sediment in NaCl oder in Soda, so erhielt man mit den wasserunlöslichen Globulinen eine stark positive Agglutination.

Schon nach diesen höchst einfachen Versuchen stellt sich unseres Erachtens die Frage nach der Bedeutung der Salze für die Agglutination ganz anders, als sie bisher aufgestellt wurde, nämlich, wie überhaupt eine Agglutination möglich ist, wenn man weiß, daß — wenigstens ein Teil — der Serumagglutinine der Globulinfraktion angehört, die in H_2O unlöslich ist. Wir können der Frage aber nur auf dem Wege näher treten, daß wir das Agglutinin nicht als einheitlichen Körper betrachten, sondern unsere Versuche so einrichten, daß sie der eventuellen Verteilung der Agglutinine auf verschiedene Eiweißfraktionen des Serums so weitgehend wie möglich Rechnung tragen.

Für die eine Agglutininfraktion haben wir bereits den Nachweis gebracht, daß bei ihr das Salz unbedingt nötig ist, um die agglutinierende Substanz in Lösung zu halten. In Parallele zu setzen sind diese Verhältnisse mit einem Demonstrationsversuch von Pick und Obermayer, der darstellt, daß in H_2O eingetragene Edestinkristalle auch bei Zusatz von Immunserum unverändert bleiben. Fügt man aber einen Tropfen Lauge zu, wodurch Edestin löslich wird, so tritt Agglutination der Kristalle ein. Dadurch, daß das in H_2O unlösliche Edestin bei schwach alkalischer Reaktion löslich wird, kommt es zur Reaktion zwischen demselben und seinem Antikörper, wobei die Edestinkristalle verklumpen. Die Ver-

hältnisse decken sich vollständig mit der Reaktionsfähigkeit zwischen der wasserunlöslichen Globulinfraktion des Agglutinins und den zugehörigen Bakterien.

Wir wollen hier gleich auf einen Punkt eingehen, der bei Versuchen in dieser Richtung zu Irrtümern führen kann, das ist der fragliche Salzgehalt der Bakterien, der an sich bei Aufschwemmung derselben in destilliertem H_2O schon genügen soll, um bei Verdünnung des Serums mit destilliertem H_2O eine positive Agglutination herbeizuführen.

Joos gibt an, daß, wenn man eine Agarkultur von Typhusbacillen in destilliertem H_2O aufschwemmt, man in der Lösung auch immer eine gewisse Menge von Salzen erhält, die dem Agar entnommen sind oder von dem kondensierten Wasser am Boden der Tube herrühren. Zudem enthalten die Bakterienleiber immer eine genügende Menge von Salz, so daß sich die Agglutination durch Beifügung von Serum ergibt. Joos lehnt deshalb eine Aufschwemmung von Typhusbacillen in destilliertem H_2O für diese Art von Versuchen ab.

Joos bezieht die Agglutination, die eintreten kann, wenn man ein mit destillierten H_2O verdünntes Immunserum mit der Abschwemmung einer Agarkultur in destilliertem H_2O zusammenbringt, auf das Kochsalz. Wir möchten nach unsereren vorhin gegebenen Ausführungen dem Soda eine viel größere Rolle zuschreiben.

Wenn man ein dialysiertes Serum mit destilliertem H_2O verdünnt und salzfreie Bakterien einträgt, so tritt — unter Berücksichtigung gewisser Verdünnungsverhältnisse, auf die wir gleich zu sprechen kommen werden — keine Agglutination ein. Gibt man aber dem dialysierten, trüben, konzentrierten Serum eine winzige Spur von Soda zu, die gerade genügt, um die Globulintrübung aufzuhellen, so kann man jetzt das Serum in sehr starken Verdünnungen noch eine Agglutination erzielen sehen. Wenn man berechnet, was für winzige Mengen von Soda bei einer Serumverdünnung 1:1000 nachher noch in 1 ccm enthalten sind, so wird man zu der Ueberzeugung kommen, daß man auf das Soda des Nährbodens mindestens ebenso achten muß, wie auf das NaCl, wenn man in salzfreien Lösungen die Verhältnisse der Agglutination studieren will.

Die Feststellung dieser Tatsache ist wichtig, weil hierdurch die Technik der weiteren Versuche wesentlich beeinflußt wird.

Ausgehend von unserer Ansicht, daß winzige Mengen von Soda wegen ihrer Fähigkeit, Globuline in Lösung zu halten, die Versuchsergebnisse stark beeinflussen können, machten wir folgenden Versuch:

Wir verdünnten ein hochwertiges Typhusimmunserum mit destilliertem H_2O auf 1:1000. Wenn man nun ein 24-stündiges Agarschrägröhrchen von Typhusbakterien mit einer geringen Menge von destillierten H_2O abschwemmt und von dieser Abschwemmung der Serumverdünnung von 1:1000 so viel zusetzt, daß auf 1 ccm ca. 1 Normalöse Bakterienrasen kommt, so kann man fast immer eine positive Agglutination beobachten. Regelmäßig trat diese Erscheinung auf mit Choleravibrionen, die — wie üblich — auf stärker alkalischem Agar gezüchtet waren. — Dagegen blieb die Agglutination unter denselben Verhältnissen fast regelmäßig aus, wenn wir mit einer Normalöse von dem Bakterienrasen in sicherer Entfernung vom Kondenswasser abnahmen und diese Oese — wie bei der Widalschen Reaktion üblich — in der Serumverdünnung verteilten. Daß bei diesem Versuch manchmal eine positive Reaktion eintritt, braucht noch immer nicht auf den Salzgehalt der Bakterien, den diese an das Wasser abgeben, bezogen zu werden, da es, wie wir gleich zeigen werden, unseres Erachtens zweifellos eine Form der Agglutination gibt, die in salzfreier Lösung zustande kommt, und die nicht nur bei hochwertigen Immunseren, sondern auch bei Seren von Erkrankten beobachtet werden kann. Dieselbe kann aber nur dann regelmäßig in Erscheinung treten, wenn man den quantitativen Verhältnissen Rechnung trägt.

Wir möchten noch einmal darauf hinweisen, daß man fast ausnahmslos bei dieser Art von Versuchen die gleichen Resultate erhält, ob man nun dialysierte Bakterien verwendet oder Bakterien, die man mit der Oese unter Vermeidung von Kondenswasser aus einem Agarschrägröhrchen entnommen hat. Die Bedeutung der Salze, die die Bakterien selbst an das Wasser abgeben, kann bei dieser Art von Versuchen so gut wie vollkommen vernachlässigt werden; wohl müssen

aber die Quanten von Salz und besonders von Soda berücksichtigt werden, die bei Abschwemmung eines Schrägröhrchens mit destilliertem H_2O, sei es aus dem Kondenswasser, sei es durch Auslaugung, aus dem Agar in die Bakterienemulsion gelangen. Bei der Bedeutung, die nach unseren Versuchen das Soda besitzt, genügt es also keineswegs, mit relativ rohen Methoden nachzuweisen, daß die Bakterienemulsion frei von NaCl ist, sondern man muß berücksichtigen, daß winzige Mengen von Soda genügen, um wasserunlösliche Globuline in Lösung zu halten. Zur Vermeidung dieser Schwierigkeiten haben wir, auch wenn wir mit dialysierten Bakterien arbeiteten. nie die Schrägröhrchen mit H_2O abgeschwemmt, sondern wir haben den Bakterienrasen unter Vermeidung des Kondenswassers mit einer Platinöse abgenommen und, in destilliertem H_2O verteilt, der Dialyse unterworfen. Wir sind der Ansicht, daß im allgemeinen eine so behandelte Bakterienaufschwemmung geeigneter zu dieser Art von Versuchen ist, als eine dialysierte Bakterienemulsion, in der man vorher eine unberechenbare Menge von Salzen und Soda aus dem Kondenswasser und Agar aufgenommen hat. Besondere Berücksichtigung verlangt dieses Moment bei Verwendung von Cholerakulturen, die auf stark alkalischem Agar gewachsen sind. Man kann sich sehr leicht davon überzeugen, wieviel Alkali man bei Abschwemmung des Schrägröhrchens mit destilliertem H_2O mitnimmt, wenn man einen Indikator zusetzt. Bei Abschwemmung eines Choleraröhrchens ist die Flüssigkeit deutlich alkalisch geworden, während man dies bei einer Aufschwemmung von Cholerabakterienrasen, die mit der Oese vom Rasen weggenommen sind, nicht beobachten kann.

Wenn man nun das Serum und die Bakterien auf Abwesenheit von NaCl untersucht, kann man selbst bei feinsten Untersuchungsmethoden noch zu differenten Resultaten kommen, wenn man das Soda nicht mitberücksichtigt, das in homöopathisch kleinen Dosen einen Ausschlag geben kann.

Haben wir nun auf die Schwierigkeiten hingewiesen, die Agglutination in vollkommen salzfreiem Medium verlaufen zu lassen, so können wir jetzt wenigstens einige Punkte vermeiden und unter praktisch genügend gleichen Bedingungen arbeiten.

Wir haben weiter oben schon demonstriert, daß ein Teil des Agglutinins in destilliertem H_2O vollkommen unlöslich ist und daß für diesen Teil des Agglutinins das NaCl ganz einfach die Rolle spielt, das Agglutinin in Lösung zu halten, analog dem Edestinversuch von Pick und Obermayer. Nun sind die Agglutinine eines Immunserums aber nicht nur in dem bei der Dialyse ausfallenden Serumeiweiß enthalten, sondern der wasserlösliche Rest besitzt ebenfalls agglutinierende Eigenschaften, wenn auch selbstverständlich das Agglutinationsvermögen gegenüber dem Vollserum herabgesetzt sein muß. Hierauf bezieht sich auch wahrscheinlich die Angabe von Joos, daß das dialysierte Serum nicht mehr so schnell agglutiniert, da er keine Rücksicht auf die wasserunlöslichen Globuline genommen hat, die sich zu Boden setzen, und wenn man nicht durch jedesmaliges Umschütteln vor Entnahme aus der dialysierten Serumportion für eine gleichmäßige Verteilung sorgt, erzielt man differente Resultate.

Es fragt sich nun, ob das wasserlösliche Agglutinin in vollkommen salzfreier Lösung eine Agglutination der zugehörigen Bakterien zu bewirken vermag; wir glauben diese Frage unbedingt bejahen zu müssen.

Die Versuchsbedingungen hierfür liegen recht kompliziert, und da frühere Untersucher eine positive Agglutination in salzfreier Lösung — mit gewissen Einschränkungen — nicht zugeben, so müssen wir näher auf diese Verhältnisse eingehen.

Joos behauptet, daß sich eine Agglutination ohne Beisein von Salzen, durch die direkte Einwirkung der spezifischen Serumsubstanz auf die mikrobe Zellensubstanz nicht vollziehen kann.

Seine Versuchsanordnung (Versuch A), um dies zu beweisen, ist folgende:

In ein Reagenzglas gibt man 2 ccm einer dialysierten Typhusbacillenaufschwemmung, ungefähr einem Agarschrägröhrchen entsprechend. Dazu gibt man eine Menge völlig salzfreien Serums, die hinreicht, um unter gewöhnlichen Umständen eine rapide Agglutination hervorzurufen (d. h. wenn 0,7 Proz. NaCl vorhanden ist), und füllt mit destilliertem H_2O auf 10 ccm auf.

Joos hat unter diesen Bedingungen keine Agglutination eintreten sehen. Friedberger bestätigt diesen Versuch, und auch wir können uns dem anschließen. Joos geht nun noch weiter und gibt an, daß, wenn er die Serumdosis vermehrt, auf das Doppelte, Dreifache, Fünffache usw. geht, man trotzdem keine Agglutination sehen kann. Diesen letzten Punkt konnten wir nicht bestätigen. Unsere Versuchsergebnisse waren folgende, und zwar wurden diese Resultate gleichmäßig sowohl bei Typhus- als auch bei Choleraserum, die beide sehr hochwertig waren, gewonnen. Diese Seren, das Choleraserum von einem Titer 1:20000, das Typhusserum 1:8000 erzielten in einer Verdünnung von 1:1000 mit destilliertem H_2O keine Agglutination, auch noch bei 1:100 konnten beide Seren in Verdünnung mit destilliertem H_2O keine Agglutination erzielen. Dagegen agglutinierte das Choleraserum bei 1:50, das Typhusserum bei 1:10 prompt in salzfreier Lösung. Wir sind uns der Schwierigkeit der Beweisführung aus dieser Versuchsanordnung vollkommen bewußt, doch können wir den Satz als bewiesen ansehen, daß ein — im übrigen wahrscheinlich sehr kleiner — Anteil der Serumagglutinine ohne Salzanwesenheit — praktisch genommen — Bakterien agglutinieren kann, falls wir den Beweis erbringen können, daß in den stärkeren Serumkonzentrationen nicht nur deshalb Agglutination möglich war, weil in ihnen das Salz nicht vollkommen ausdialysiert ist und nun allmählich eine Grenze erreicht werden muß, wo genügend Salz in einer bestimmten Serummenge vorhanden ist, um eine Agglutination zu ermöglichen.

Theoretisch wird sich dieser Beweis wohl kaum in genügender Weise erbringen lassen, aber wir fanden eine Versuchsanordnung, die nachzuweisen gestattet, daß die Salzmenge, die eventuell in den starken Serumkonzentrationen 1:50 und 1:10 noch vorhanden sein mag, nicht genügt, um bei einer Serumverdünnung 1:1000 in destilliertem H_2O eine Agglutination zu ermöglichen, so daß also die positive Agglutination bei stärkerer Serumkonzentration nicht auf eine Konzentrierung der Salze, sondern auf eine bestimmte Gruppe Eiweißkörper bezogen werden muß.

Man kann in schonendster Weise die Salze von den Eiweißkörpern durch Ultrafiltration im Bechholdschen Apparat trennen. Wir filtrierten nun unsere gut ausdialysierten Serumverdünnungen 1:50 und 1:10 (siehe weiter oben) und bekamen ein Filtrat, das keine Eiweißreaktion gab und höchstens noch die eventuell vorhandenen Salze enthielt. Mit dieser fraglichen „Salzlösung" setzten wir nun wieder den Versuch an, dialysiertes Serum statt mit destilliertem H_2O mit diesem Filtrat auf 1 : 1000 zu verdünnen. War es die Salzkonzentration allein, die bei stärkerer Serumkonzentration die positive Agglutination bedingt hatte, so mußte bei dieser Versuchsanordnung Agglutination auftreten; sie blieb aber in beiden Reihen (Typhus- und Cholera-serum) aus.

Wenn wir nun auch nicht behaupten wollen, daß wir in theoretisch vollkommen einwandfrei salzfreier Lösung Agglutination erzielt hätten, so glauben wir doch wenigstens so viel mit Sicherheit bewiesen zu haben, daß es in Immunseren einen wasserlöslichen Agglutininanteil geben kann, der in praktisch salzfreier Lösung, wo wenigstens die anderen Agglutininanteile unter gleichen Verhältnissen keine Agglutination erzielen können, Bakterien zur Agglutination bringen kann. Weiter kann unseres Erachtens die Beweisführung heute nicht gehen, und wir halten uns jedenfalls zu der Behauptung berechtigt, daß eine Agglutination in salzfreier Lösung erfolgen kann, wenigstens wo unter praktisch gleichen Verhältnissen mit anderen Bestandteilen des zusammengesetzten Serumagglutinins keine Agglutination eintritt; doch scheint der Agglutininanteil, der hierzu befähigt ist, im Serum nur in geringen Mengen, und wohl auch inkonstant — wir kommen hierauf noch zurück — vorhanden zu sein. Wir wollen ihn als Agglutinin II bezeichnen, einen Körper, der in destilliertem H_2O löslich ist und in „salzfreier" Lösung Agglutination erzeugen kann, im Gegensatz zu Agglutinin I, von dem wir gezeigt haben, daß es in destilliertem H_2O unlöslich ist, und bei welchem das NaCl selbstverständlich die Rolle spielt, diesen Körper einfach in Lösung zu bringen, damit er überhaupt auf die Bakterien einwirken kann.

Was nun die Mengen von Agglutinin I und Agglutinin II betrifft, so können beide zusammen noch nicht die Hauptmenge der agglutinierenden Serumbestandteile bilden. Agglutinin II ist in sehr geringen Mengen vorhanden, manchmal anscheinend gar nicht; das Agglutinin I ist so reichlich vorhanden, daß ohne dasselbe die agglutinierende Kraft eines Serums schon erheblich vermindert ist. Das Agglutinin II scheint nach unseren Versuchen der Albuminfraktion anzugehören, da nach Halbsättigung eines agglutinierenden Serums mit Ammonsulfat und Entfernung der Globuline der Rest nach reichlicher Dialyse in salzfreier Lösung noch spurenweise Agglutination zeigt. Ob sich ein Agglutinin mit ähnlicher Eigenschaft auch in der Globulinfraktion findet, konnten wir bisher nicht einwandfrei entscheiden, dieser Punkt ist auch für die vorliegenden Untersuchungen unwesentlich. Das Agglutinin II scheint nur in hochwertigen Seren vorhanden zu sein, es findet sich auch manchmal im Serum von Typhuskranken, wo man bei einer Verdünnung des Serums in destilliertem H_2O und Verwendung von „salzfreien“ Bakterien manchmal spurenweise Agglutination sehen kann, während andere positive Seren von meist schwächerm Titer unter ganz gleichen Versuchsbedingungen diese Erscheinung nicht zeigen. Es scheinen daher bei den agglutinierenden Körpern ähnliche Verhältnisse vorzuliegen, wie bei den meisten Antikörpern, die bei ihrer gradweisen Entwicklung zu höherem Titer sich über verschiedene Serumeiweißfraktionen verteilen; ein Ausdruck derselben Erscheinung ist auch die verschiedene Thermoresistenz von Antikörpern im Beginn und bei weit vorgeschrittener Immunisierung, wie er sich bei allen Antikörpern und auch bei dem Reaktionskörper in der Wassermannschen Reaktion zeigt.

Außer dem Agglutinin I und Agglutinin II, welch letzteres wahrscheinlich der Albuminfraktion angehört — ein sicherer Beweis durch wiederholte Umfällung mit Ammonsulfat war nicht zu erbringen, der geringen Quanten wegen — und welches unter praktisch gleichen Versuchsbedingungen in salzfreier Lösung Bakterien agglutiniert, muß es noch einen dritten Körper, oder wahrscheinlich eine Gruppe von Körpern, geben, die die Hauptmenge der Agglutinine darstellen. Wir

wollen sie als Agglutinin III bezeichnen, ohne damit natürlich vorauszusetzen, daß es sich um einen einheitlichen Körper handelt. Wir nehmen sogar an, daß verschiedene Körper dabei mitwirken, doch hätte eine weitere Differenzierung unseres Erachtens für die vorliegenden Untersuchungen keinen Wert. Dieses dritte Agglutinin gehört wahrscheinlich der wasserlöslichen Gruppe der Eu- und Pseudoglobuline an, so wie Agglutinin I den wasserlöslichen Eu- und Pseudoglobulinen, das Agglutinin II mit ziemlicher Sicherheit, wenigstens teilweise, den Albuminen zuzurechnen ist. Bemerken wollen wir noch, daß zweifellos auch Nukleoproteide am Aufbau der Agglutinine beteiligt sind; man sieht also, mit wie komplizierten Verhältnissen man es beim Studium dieser Frage zu tun hat, und zu welch falschen Konsequenzen es führen muß, ein einheitliches Agglutinin anzunehmen und die Versuchsergebnisse darauf zu beziehen.

Bei unserer Verteilung der Agglutinine auf die einzelnen Serum-Eiweißfraktionen sind wir uns natürlich klar darüber, daß dies keine abschließende Untersuchung ist, die im Rahmen dieser Versuche auch gar nicht bezweckt war, nur so viel kann nach unseren Versuchen als sichergestellt gelten, daß die von uns (willkürlich) unterschiedenen drei Gruppen, das Agglutinin I, II und III, tatsächlich auch in gewisser Weise chemische Differenzen zeigen müssen.

Auf diesen bisherigen Feststellungen fußend, wollen wir uns nun weiter mit der Theorie von Joos und Bordet auseinandersetzen und vor allen Dingen versuchen, durch neues experimentelles Material die Frage zu klären.

Wenn wir der Annahme zuneigen, daß das NaCl bei der Agglutination hauptsächlich die Rolle spielt, die Agglutinine in Lösung zu halten, damit sie überhaupt auf die Bakterien einwirken können, scheint Bordet der Ansicht zuzuneigen — und Joos präzisiert diese Anschauung — daß zur Bindung des Agglutinins an die Bakterien kein NaCl nötig ist, sondern daß die Agglutination streng in zwei Phasen zu trennen ist:

1) die Bindung des Agglutinins an die agglutinable Substanz (die nach Joos in vollkommen salzfreier Lösung erfolgt),

2) die Verklumpung, die nur in Gegenwart von NaCl möglich ist, welches nach Bordets Auffassung dieselbe Rolle hierbei spielt, wie bei der Ausfällung von Tonsuspensionen, nach Joos aber nach bestimmten chemischen Proportionen in die chemische Bindung von Agglutinin und agglutinabler Substanz eintritt.

Bordets Behauptung ist nur ein Analogieschluß und kann nicht widerlegt werden, da er experimentell überhaupt nicht begründet ist. Joos hat seine Auffassung durch eine Reihe von Experimenten begründet und kommt zu Schlüssen, die wir auf Grund neugefundener Versuchsanordnung nicht anerkennen können. Wir müssen uns daher mit Joos' weiteren Versuchen beschäftigen, die die Bindung des Agglutinins an die agglutinable Bakteriensubstanz betreffen.

Joos hat experimentell zu beweisen versucht, daß sich das Agglutinin in salzfreier Lösung an die Bakterien bindet, indem er nach einer gewissen Bindungszeit die Bakterien, die mikroskopisch keine Agglutination zeigten, abzentrifugierte oder durch eine Tonkerze filtrierte; er konnte dann in der überstehenden, resp. filtrierten Flüssigkeit kein Agglutinin mehr nachweisen, während die abzentrifugierten Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung schnelle Agglutination zeigten.

Dies ist das Hauptexperiment von Joos, auf dem hauptsächlich seine ganze Theorie basiert; die chemische Aufnahme des NaCl in dieser Bindung ist weniger wesentlich.

Friedberger bestätigt in seiner Wiederholung des Joosschen Versuches, daß in salzfreier Lösung das Agglutinin an die Bakterien gebunden wird. Wenn man nach einer gewissen Bindung das Gemisch zentrifugiert und das Sediment in physiologischer Kochsalzlösung aufnimmt, dann tritt eine schnelle Agglutination ein.

Beide Autoren nehmen an, daß damit der Beweis erbracht ist, daß das Agglutinin an die Bakterien verankert ist, daß aber diese nachgewiesene Bindung nicht zur Ausfällung der Bakterien in Flocken genügte, sondern daß hierzu die Gegenwart des Salzes nötig ist.

Auch Friedberger gibt an, daß die vom Sediment abgegossene Flüssigkeit bei Verwendung von nicht zu großen

Serummengen ihres gesamten Agglutinins beraubt ist, daß aber ein Ueberschuß nicht durch die Bakterien in salzfreier Lösung gebunden werden kann.

Gehen wir von diesen Tatsachen aus, daß in salzfreier Lösung ein Ueberschuß von Agglutinin nicht „verwertet" wird, so können wir ohne weiteres demonstrieren, was aus den Versuchen Joos und Friedberger gar nicht hervorgeht, daß die „Bindung" des Agglutinins an die Bakterien in salzfreier und salzhaltiger Lösung ein durchaus verschiedener Vorgang ist. Mischt man nämlich eine zur Agglutination sehr reichlich genügende Serummenge das eine Mal in salzfreier, das andere Mal in NaCl-haltiger Lösung mit homologen Bakterien unter Einhaltung genau gleicher Mengenverhältnisse, so wird man sich sehr leicht davon überzeugen können, daß unter sonst durchaus gleichen Verhältnissen man aus salzhaltiger Lösung durch eine genügende Menge Bakterien sämtliches Agglutinin — auch wenn es in starker Konzentration vorhanden ist — entfernen kann, während dies in Parallelversuchen in salzfreier Lösung nicht möglich ist. Wir können schon aus diesem Versuchsergebnis, das in häufiger Wiederholung sowohl mit Typhus- als mit Choleraserum stets den gleichen Ausfall gab, schließen, daß Differenzen zwischen der Bindung des Agglutinins in salzfreier und salzhaltiger Lösung bestehen, die nicht lediglich darauf beruhen können, daß die Bindung in salzfreier Lösung ebenso wie in NaCl erfolgt, und daß das NaCl nur die Rolle spielt, nach stattgehabter Bindung entweder im Sinne Bordets oder Joos' die Flockung der agglutininbeladenen Bakterien herbeizuführen.

Wenn man diesen Hauptversuch von Joos ausführen will, so muß man erst durch Serienversuche feststellen, wo die Serumverdünnung liegt, aus der man durch Bindung in salzfreier Lösung sämtliches Agglutinin entfernen kann, so daß nach Zentrifugieren die überstehende Flüssigkeit frei von Agglutinin ist und das Sediment vom gleichen Röhrchen — in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen — schnelle Agglutination ergibt. Wir wollen hier gleich vorwegnehmen, daß es uns wohl gelungen ist, solche Serumverdünnungen zu finden, so daß nach Bindung in salzfreier Lösung und Zentri-

fugieren die überstehende Flüssigkeit nicht mehr wie vorher Agglutination hervorrufen konnte. Auch konnten wir andere Serumverdünnungen finden, bei denen das Sediment, in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen, schnell agglutinierte, doch gelang es uns im Gegensatz zu Joos nicht, die beiden Ergebnisse bei ein und derselben Serumverdünnung in reiner Form zu erzielen: wir meinen so, daß das in NaCl aufgenommene Sediment ebenso agglutinierte, als wenn sämtliches Agglutinin in Aktion getreten wäre, und daß in der restierenden Flüssigkeit auf keine Weise mehr Agglutinin nachzuweisen war, so wie dies letztere bei Bindung in NaCl tatsächlich möglich ist. Worauf dieser Unterschied zwischen den Ergebnissen unserer und der Joosschen Versuche beruht, können wir nicht angeben, jedenfalls kann für uns an der oben genannten Tatsache kein Zweifel bestehen, und wir halten es für möglich, daß eine Differenz in den Beobachtungen daher kommt, daß Joos ebenso wie Friedberger auf schnelle makroskopische Ausflockung gingen. Dies ist unseres Erachtens für diese theoretischen Untersuchungen deshalb unzweckmäßig, weil auf diese Weise eine Lösung für vollkommen agglutininfrei angesehen werden kann, während man sich z. B. mit dem Agglutinoskop noch überzeugen kann, daß das Agglutinin nicht quantitativ verschwunden ist.

Ob dieses verschiedene Vorgehen der Grund der differenten Beobachtungen ist, können wir nicht angeben; jedenfalls steht für uns — sowohl auf Grund unseres oben gegeben Versuches: quantitative Differenzen bei Bindung in destilliertem H_2O und in NaCl, als auch auf Grund unserer Versuche, „agglutininbeladene“ Bakterien und agglutininhaltige Flüssigkeit nach Bindung und Zentrifugieren getrennt zu untersuchen — die Tatsache fest, daß man schon allein auf Grund dieser Versuche die Bindung in salzfreier und salzhaltiger Lösung nicht ohne weiteres identifizieren kann.

Auf Grund quantitativer Analyse der vorliegenden Verhältnisse ist es uns dann auch gelungen, eine Versuchsanordnung zu finden, um nachzuweisen, daß diese Bindung des Agglutinins an die Bakterien in salzfreier Lösung, wenigstens teilweise, eine scheinbare ist, und daß bei der komplexen

Natur des Agglutinins Versuchsergebnisse erzielt werden können, die bei einer Auffassung des Agglutinins als einheitlichen Körper zu Trugschlüssen führen können.

Nehmen wir zuerst die Tatsache, daß bei geeigneter Verdünnung des Agglutinins in salzfreier Lösung salzfreie Bakterien sämtliche Agglutinine der Lösung entziehen können. Wir betonen hier nochmals, daß im Gegensatz zu salzhaltiger Lösung ein kleiner Ueberschuß an Agglutinin das Versuchsergebnis stören kann.

Diese Agglutinineinheit (d. h. die eben zur Agglutination genügende Dosis) setzt sich nun nach unseren früher gegebenen Erklärungen aus mindestens drei verschiedenen Körpern zusammen, von denen wir hier nur Agglutinin I und II in Rechnung zu ziehen brauchen. Agglutinin II ist wasserlöslich und auch imstande, in salzfreier Lösung Bakterien zu agglutinieren. Dadurch ist der sichere Beweis erbracht, daß es sich auch in salzfreier Lösung an die Bakterien bindet. Anders hingegen verhält es sich mit Agglutinin I. Dies ist in H_2O unlöslich und kann durch Zentrifugieren aus der „Lösung" entfernt werden, wie wir früher einwandsfrei zeigen konnten, so daß es mit den abzentrifugierten Bakterien zusammen sich im Sediment findet, ohne daß man zu der Annahme berechtigt wäre, daß es an die Bakterien „verankert" war; den experimentellen Beweis für diese Auffassung werden wir weiter unten führen. — Wenn also von den drei Agglutininanteilen schon zwei aus der Lösung entfernt sind, von denen man annehmen kann, daß ein geringer Anteil (II) verwertet ist, ein größerer Anteil (I) aber nur mechanisch mitgerissen zu sein braucht, so kann nicht genügend Agglutinin übrigbleiben, um noch Agglutination zu erzielen, da der Versuch so eingerichtet ist, daß die geringste Abnahme des Agglutinins ein negatives Resultat ergeben muß, da ja, wie öfter betont, ein Ueberschuß dies Resultat nicht zustande kommen läßt.

Joos schien nach seiner Auffassung die Konsequenz aus seinem Bindungsversuch so eindeutig, daß er es unterließ, eine Kontrolle anzustellen, die eigentlich nach serologischen Grundsätzen ohne weiteres erforderlich gewesen wäre; namentlich den Kontrollversuch, ob man das Agglutinin auch mit

heterologen Bakterien aus salzfreier Lösung entfernen kann. Bei geeigneter Verdünnung gelingt es tatsächlich, in salzfreier Lösung mit heterologen Bakterien eine ähnliche Abnahme des Agglutinins zu erzielen. Wir versetzten ein Typhusserum — dialysiert und mit H_2O verdünnt — mit einer Aufschwemmung von rosa Hefe und zentrifugierten. Diese Hefe wurde erstens gewählt, weil wir einen den Typhusbakterien möglichst fernstehenden Pilz bevorzugten, und andererseits auch deshalb, weil die Hefezellen sich sehr leicht und vollständig abzentrifugieren lassen, wobei die überstehende Flüssigkeit vollkommen klar ist, was sich mit vielen anderen Bakterien, z. B. mit Typhus und Cholera nicht bewerkstelligen läßt und auch bei den oben geschilderten Bindungsversuchen in salzfreier Lösung störend wirkt. War die Agglutinindose so gewählt, daß kein Ueberschuß vorhanden war, so blieb die Agglutination nach „Bindung" mit rosa Hefe aus. In einer Beziehung unterschied sich diese „Bindung" an Hefezellen von der Bindung an homologe Bakterien: es war gleichgültig, ob man die Hefe sofort nach Zumischung oder nach Bindung abzentrifugierte, und das Quantum weggenommenen Agglutinins schien etwas geringer. Diese Verhältnisse können unseres Erachtens zwanglos durch das Vorhandensein von Agglutinin II erklärt werden, das natürlich bei Versuchen mit homologen und heterologen Bakterien in salzfreier Lösung different reagieren muß. Aehnliche Resultate wie mit rosa Hefe ließen sich übrigens auch mit feinsten Suspensionen nichtorganischer Körper erzielen. Diese Versuche decken sich im Prinzip mit dem schon weiter oben gegebenen Versuch, daß man einen Teil des Agglutinins aus dem ausdialysierten Serum einfach durch Zentrifugieren gewinnen kann. Setzt man derartigen Serumverdünnungen feine Suspensionen zu, so gelingt es, auch aus stärkeren Serumverdünnungen, die keine Trübung mehr erkennen lassen, die wasserunlöslichen Globuline durch Zentrifugieren zur Abscheidung zu bringen.

Noch einwandsfreier gelang der Beweis, daß das Agglutinin, das sich in dem oben geschilderten Bindungsversuch im Sediment der abzentrifugierten Bakterien findet, nicht an die Bakterien verankert zu sein braucht.

Wir nahmen eine nicht zu starke Verdünnung von dialysiertem Typhusserum in destilliertem H_2O, gaben dann wieder Hefezellen zu und zentrifugierten scharf. Das Sediment von rosa Hefe wurde nun in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen, einige Zeit stehen gelassen und wieder zentrifugiert. Die jetzt von der Hefe abgetrennte Flüssigkeit war imstande, Typhusbakterien zu agglutinieren. Man darf wohl kaum annehmen, daß die Hefe das Agglutinin durch spezifische Verankerung aus der salzfreien Lösung entnommen habe, sondern hier handelt es sich um das wasserunlösliche Agglutinin I, das man aus stärkeren Serumkonzentrationen einfach durch Zentrifugieren der Lösung gewinnen kann; ist das Serum stärker verdünnt, so wirken die Bakterien einfach als korpuskuläre Elemente, die mechanisch die ungelösten Globuline mit zu Boden reißen. Daß sich bei diesem Versuch Differenzen ergeben bei Verwendung homologer und heterologer Bakterien, haben wir bereits erwähnt und auch angegeben, womit diese Differenzen erklärt werden können.

Ob man nun die von uns als wahrscheinlich auf Grund unserer Befunde gegebene Erklärung der vorliegenden Verhältnisse gelten lassen will oder nicht, jedenfalls können wir auf Grund unserer neuen Versuche behaupten, daß eine Verankerung des Agglutinins an die entsprechenden Bakterien in salzfreier Lösung nicht als bewiesen angesehen werden kann — von dem Agglutinin II sehen wir bei dieser Behauptung natürlich ab — so daß damit auch die Bedeutung des NaCl für die Agglutination anders aufgefaßt werden muß.

Wir stehen auch auf Grund gerade der Joosschen Versuche und besonders der von uns neu hinzugefügten nach wie vor auf dem Standpunkt, daß das NaCl zur Agglutination deshalb unumgänglich nötig ist, weil ein wesentlicher Bestandteil des Serumagglutinins in destilliertem H_2O unlöslich ist, sowie auch in salzfreier Lösung nicht an die homologen Bakterien verankert wird; den Gegenbeweis für die letztere Tatsache können wir nach unseren oben gegebenen Versuchen nicht mehr als stichhaltig anerkennen.

Wir können sogar noch einen Schritt weitergehen und als wahrscheinlich erscheinen lassen, daß nicht nur in salz-

freier Lösung keine Bindung bestimmter Agglutininbestandteile an die entsprechenden Bakterien stattfindet, sondern daß sogar in salzfreier Lösung eine Dissoziation der Bindung zwischen Agglutinin und agglutinabler Substanz eintritt, wenn dieselbe vorher in salzhaltiger Lösung zustande gekommen war. Die Versuchsanordnung, um diese Behauptung wahrscheinlich zu machen, lehnt sich an das eine Experiment von Bordet an, das dieser seiner Theorie zugrunde legt:

Läßt man Bakterien in salzhaltiger Lösung sich mit Agglutinin beladen und zur Ausflockung kommen, so läßt sich die Agglutination aufheben, wenn man die agglutinierten Bakterien abzentrifugiert und in destilliertem H_2O aufschwemmt. Fügt man nun zu dieser Mischung zuerst salzfreie Bakterien der gleichen Art hinzu und nach einiger Zeit NaCl, so werden alle Bakterien ausgefällt, falls ein genügender Ueberschuß von agglutinierender Substanz vorhanden war.

In NaCl verläuft das Phänomen nicht in gleicher Weise, es kann also als wahrscheinlich angenommen werden, daß die Bindung zwischen Agglutinin und agglutinierender Substanz ein in gewissem Sinne reversibler Prozeß ist, auf den selbst eine Veränderung der Löslichkeitsverhältnisse — selbst nach stattgehabter Bindung — nachträglich noch einwirken kann. Für die agglutinable Substanz der Bakterien und ihre Löslichkeitsverhältnisse gelten wahrscheinlich ähnliche Verhältnisse wie für das Agglutinin, wenn auch hier die Verhältnisse nicht so leicht zu analysieren sind, da einer Trennung der verschiedenen Bakterieneiweißbestandteile immer ein differenter chemischer Eingriff der Aufschließung der Bakterienzelle vorhergehen muß, dessen Wirkung nie ganz übersehen werden kann. Immerhin muß man auch für die agglutinable Substanz der Bakterien die Vorstellung zugrunde legen, daß der physikalische Zustand dieser Eiweißkörper für das Zustandekommen der Agglutination nicht gleichgültig ist; die spezifische agglutinable Substanz der Bakterien gehört — wenigstens teilweise — den gleichen Eiweißgruppen an, wie die wasserunlöslichen Bestandteile des Serumagglutinins, und eine Veränderung in der Löslichkeit dieser Eiweißkörper — vermutlich Globuline und Nukleoproteide — kann stattfinden, ohne daß dadurch die Vitalität der Bakterien irgendwie geschädigt zu sein braucht,

oder daß diese Veränderung irgendwie morphologisch zum Ausdruck käme. Man kann sich hiervon überzeugen bei der Säureagglutination der Bakterien nach L. Michaelis, oder auch bei der Ausfällung von Bakterien durch bestimmte Konzentrationen von Neutralsalz, z. B. Ammoniumsulfat. Die Kultivierbarkeit der Bakterien leidet unter diesen Eingriffen gar nicht, während doch die Löslichkeitsverhältnisse bestimmter Teile der Bakterieneiweißkörper — wenigstens vorübergehend — eine wesentliche Veränderung durchmachen.

Man muß nach alledem bei Versuchen über die Bindung von spezifischen Agglutininen an homologe Zellen die Löslichkeitsverhältnisse sowohl des Agglutinins als auch der agglutinablen Substanz soweit wie möglich berücksichtigen.

Zu beachten sind diese ganzen Löslichkeitsverhältnisse von Agglutinin und agglutinierter Substanz auch bei physikalischen Untersuchungen, die in neuerer Zeit häufiger unternommen wurden, um z. B. Unterschiede zwischen normalen und sensibilisierten Zellen zu demonstrieren. So haben z. B. Neisser und Friedemann (Münch. med. Wochenschr., 1904, No. 11 und 19), sowie Bechhold (Zeitschr. f. physik. Chem., Bd. 48, 1904, p. 384) Versuche angestellt über die physikalisch-chemischen Zustandsveränderungen, welche Bakterien unter dem Einflusse eines agglutinierenden Serums erleiden. In gleicher Richtung bewegen sich Versuche von Eisner und Friedemann über das Verhalten sensibilisierter Blutkörperchen gegenüber physikalisch-chemischen Einflüssen. Neisser und Friedemann, sowie Bechhold konnten feststellen, daß sensibilisierte Bakterien gegenüber normalen eine erhöhte Empfindlichkeit gegenüber Elektrolyten aufweisen und dementsprechend leichter durch diese ausgeflockt werden.

Diese Untersuchungen sind auch für das vorliegende Thema von Bedeutung, und wir müssen uns später noch mit denselben beschäftigen. — Wenn man nun aber derartige Verhältnisse studieren will, muß man nach unseren jetzt gewonnenen Erfahrungen bei diesen Versuchen berücksichtigen, ob überhaupt eine Bindung des Agglutinins an die Bakterien stattgefunden hat. Bei Versuchen mit Neutralsalzen steht dieser Annahme nichts im Wege, wohl aber können Verhältnisse eintreten, wo dieser Punkt erst geklärt werden muß. Wir stellten früher Versuche darüber an, ob sich normale und sensibilisierte Bakterien anders verhalten gegenüber der Säureagglutination nach Michaelis, was als durchaus wahr-

scheinlich zu erwarten, oder man kann sogar sagen, zu postulieren war. Derartige Unterschiede waren aber in keiner Weise festzustellen; nach unseren jetzigen Versuchen neigen wir der Ansicht zu, daß derartige Differenzen einfach deshalb nicht zu konstatieren waren, weil unter den nicht veränderlichen Versuchsbedingungen der Säureagglutination der Bakterien eine Bindung der Hauptbestandteile des Agglutinins an die Bakterien überhaupt nicht stattgefunden hat.

Wir erinnern hier auch an die ganz ähnlichen Verhältnisse, die sich durch die Untersuchungen über die Teilstücke des Komplements ergeben haben, auch hier kann eine Wirkung der verschiedenen Komplementbestandteile gleichzeitig nur in salzhaltiger Lösung stattfinden, wobei man annehmen muß, daß das Salz nur die Bedeutung hat, gewisse Teile des Komplements in Lösung zu halten.

Bis jetzt haben wir aus den angeführten Versuchen nur ersehen, daß das Salz bei einem gewissen Teil des Agglutinins (I) die Rolle spielt, es in Lösung zu halten, bei einem anderen Teil (II) spielt es überhaupt keine Rolle, da es zur Agglutination vollkommen unnötig ist. Nun bleibt aber noch immer ein großer — vielleicht der Hauptteil des Agglutinins übrig, bei dem die Verhältnisse nicht ohne weiteres so klar einzusehen sind, wie bei den beiden Bestandteilen I und II.

Es wäre immerhin denkbar, daß die Behauptung, das Salz trete chemisch in die Bindung von Agglutinin und agglutinabler Substanz ein (Joos), wenigstens für diesen Bestandteil — nach unserer Bezeichnung III — zutreffen könnte. Wir müssen daher prüfen, welche experimentellen Grundlagen für oder gegen diese Annahme sprechen, und wollen geich vorwegnehmen, daß wir nach den bis jetzt vorliegenden Untersuchungen der Ansicht sind, daß der Beweis nicht erbracht werden kann, daß das Salz chemisch in eine Bindung von Agglutinin und agglutinabler Substanz eintritt und daher kein Grund vorliegt, die bisher als am wahrscheinlichsten vorgetragene Ansicht zu modifizieren, wonach dem Salz einerseits die Rolle zukommt, Agglutinin und agglutinable Substanz in Lösung zu halten und eventuell im Bordetschen Sinne die

sensibilisierten Bakterien auszuflocken im Einklang mit den Versuchen von Neisser, Friedemann und Bechhold, wobei aber diese ausflockende Wirkung nur als akzessorischer Vorgang angesehen werden kann, da nach unseren Versuchen auch eine Ausflockung ohne Salz zustande kommen kann.

Nach Joos sind die zum Zustandekommen der Agglutination nötigen Kochsalzmengen sehr gering; es genügt bei völligem Mangel von NaCl ein Zusatz von 1 mg, um schnelle Agglutination hervorzurufen. Friedberger konnte erst bei Zusatz von 5 mg in einem Gesamtvolumen von 10 ccm deutliche Agglutination erzeugen bei Verwendung eines Choleraserums. Unsere Zahlen stimmen viel eher überein mit denen von Friedberger als mit denen von Joos, doch möchten wir hier gleich noch einmal darauf hinweisen, daß die Bestimmung, wieviel NaCl bei derartigen Versuchen nötig ist, um Agglutination hervorzurufen, deshalb nicht eindeutig sein kann, weil, wie wir schon früher ausführten, die Anwesenheit ganz geringer Mengen von Soda das Resultat erheblich beeinflussen kann. Die Beweisführung von Joos wurde von Friedberger unserer Anschauung nach einwandsfrei widerlegt, und wir wollen die einschlägigen Verhältnisse, die auch wir einer experimentellen Nachprüfung unterzogen, nur so weit darstellen, als zum Verständnis der aufgestellten Theorie notwendig erscheint.

Joos hält die Beteiligung des NaCl an der Agglutination für ein „Faktum chemischer Ordnung“; das NaCl spielt „eine aktive Rolle“, es muß in die Verbindung von Agglutinin und agglutinabler Substanz in bestimmten Proportionen eintreten. Joos stellt sich damit in direkten Gegensatz zu Bordets théorie physique, wonach nur die Anwesenheit der Salze in der Lösung selbst nötig ist, wobei wir hier gleich darauf hinweisen wollen, daß Bordet die Anwesenheit des Salzes nur in dem Sinne für nötig hält, daß die sensibilisierten Bakterien physikalisch durch den Elektrolyt ausgeflockt werden. Eine Beziehung des NaCl zur Löslichkeit von Agglutinin oder agglutinabler Substanz kennt Bordet noch nicht. Joos gründet seine Theorie auf eine experimentell höchst zweifel-

haft begründete Basis, er glaubt nachweisen zu können, daß dialysierte agglutinierte Bakterien der Suspensionsfähigkeit mehr NaCl entziehen können, als dies dialysierte Bakterien in nicht agglutiniertem Zustande tun; abgesehen von der Möglichkeit einer physikalischen Adsorption an die ausgeflockte Bakterienemulsion, die wir als Suspensionskolloid betrachten können, scheint uns auch diese Tatsache schwer beweisbar zu sein.

Die Versuchsanordnung von Joos war folgende: Er nahm drei gleiche Mengen einer gleichen NaCl-Lösung, versetzte zwei davon mit einer gleichen Menge dialysierter Bakterienemulsion und eine von diesen Mischungen mit einer genügenden Menge dialysierten Serums. Die drei Röhrchen wurden auf gleiches Volumen aufgefüllt, der Eintritt einer kräftigen Agglutination in dem entsprechenden Röhrchen abgewartet und dann die drei Mischungen durch Tonkerzen filtriert und zu gleichen Mengen Filtrat gleiche Mengen Silbernitrat zugefügt. Es ergaben sich nun differente Trübungen in den verschiedenen Mischungen, und Joos bezieht die entstandene Trübung auf die restierende Menge NaCl.

Diese Versuchsanordnung kann — wie auch schon Friedberger betont — für die vorliegenden Verhältnisse nicht zu richtigen Resultaten führen, allein schon weil das Silbernitrat auch mit den Eiweißkörpern des zugesetzten Serums einen Niederschlag ergibt, auch aus den Bakterienemulsionen gehen wahrscheinlich schnell lösliche Eiweißkörper in die NaCl-Lösung über. Friedberger vermied diese Fehler, indem er auch zu den Kontrollversuchen eine gleiche Menge dialysiertes Normalserum zusetzte und nach stattgehabter Agglutination und Filtration der drei Gemische durch Filterkerzen das NaCl in den drei Filtraten nach Volhard titrierte. Es fand ich kein Mehrverbrauch von NaCl durch agglutinierte Bakterien; wohl nahmen dialysierte Bakterien eine beträchtliche Menge von NaCl aus der Flüssigkeit auf, aber ein Unterschied war nicht festzustellen. Friedberger konnte auch nicht nachweisen, daß die Abnahme der NaCl-Menge im Filtrat nach der Agglutination der Intensität des Phänomens parallel sei.

Auf die weiteren Versuche von Joos, die er in dieser Beziehung angestellt hat, wollen wir hier nicht näher eingehen, da sie unseres Erachtens durch Friedberger einwandfrei widerlegt sind; wir haben diese Versuche nach Friedbergers Versuchsanordnung wiederholt und sind zu den gleichen Resultaten gekommen wie er. Betreffs der Kontroverse zwischen Joos und Friedberger bezüglich dieser Resultate verweisen wir auf die Originale, irgend etwas Stichhaltiges konnte Joos unseres Erachtens gegen Friedbergers Versuche und Schlußfolgerungen nicht vorbringen. Was nun den Einfluß der Kochsalzmengen auf das Zustandekommen der Agglutination betrifft, so gibt schon Joos einen Versuch an, der sehr dafür spricht, daß das NaCl weniger in chemischem Sinne wirksam ist, da es nämlich nicht auf die absolute Menge des zur Verfügung stehenden NaCl ankommt, sondern auf die Konzentration, in der sich das NaCl in Lösung befindet, was unseres Erachtens in dem Sinne zu deuten ist, daß das vorhandene NaCl auf die Löslichkeitsverhältnisse der bei der Reaktion beteiligten Eiweißköper von Einfluß ist. Joos zeigt, daß unter gewissen Verhältnissen 1 mg NaCl in 10 ccm Gesamtvolumen nicht imstande ist, das Phänomen der Agglutination hervorzurufen, während es eintritt, wenn die gleichen Substanzen, inklusive 1 mg NaCl, in 2—3 ccm Gesamtvolumen aufeinander einwirken. Wir konnten dies Versuchsergebnis bestätigen, ziehen aber daraus den Schluß, daß es höchst unwahrscheinlich ist, daß eine chemische Bindung des NaCl stattfindet, da diese bei gleichen Salzmengen in 10 ccm ebenso gut stattfinden müßte, wie in 2—3 ccm.

Friedberger untersuchte nun auch noch die Einwirkung stärker konzentrierter NaCl-Lösungen auf das Zustandekommen der Agglutination. Er fand, daß für Cholerabacillen das Optimum bei einer Konzentration von 0,6 Proz. NaCl liegt, bei stärkeren Konzentrationen erfolgt die Agglutination langsamer, um wieder bei 16 Proz. eine Zunahme zu erfahren. Hier kommen jedenfalls Verhältnisse in Frage, wie sie in den Versuchen von Bechhold, Neisser und Friedemann dargestellt sind.

Friedberger konnte außerdem noch nachweisen, daß außer NaCl auch noch eine große Reihe anderer anorganischer und organischer Salze Agglutination in Lösungen hervorrufen konnten, wo sie ohne Salzanwesenheit nicht auftritt. Das Studium dieser Frage ist dadurch sehr erschwert, daß erstens darauf geachtet werden mußte, daß diese Salze nicht in gleich starken Lösungen nach Gewichtsverhältnissen verwendet werden, wie dies Friedberger tat, sondern in äquimolekularen Lösungen. Außerdem ist es von großer Bedeutung, ob es sich um Elektrolyte oder Nichtelektolyte handelt (NaCl, respektive Harnstoff oder Zucker), da die Elektrolyte einen ausflockenden Einfluß ausüben können, der den Nichtelektrolyten in dem Maße nicht zukommt (diese haben eher einen bakterienauflösenden Einfluß, wie z. B. Harnstoff), obwohl auch hier sehr komplizierte Verhältnisse vorliegen können, indem z. B. manche Blutkörperchen durch gewisse Zuckerarten sehr stark agglutiniert werden. Die Wirkung von Metallsalzen, z. B. $CuSo_4$, läßt sich überhaupt schwer in Parallele setzen mit dem Einfluß von NaCl auf die Agglutination.

Von ganz besonderer Bedeutung in dieser Richtung ist auch die Tatsache, ob es sich um Neutralsalze handelt oder um Salze, die alkalisch oder sauer reagieren, wie wir z. B. beim Soda sahen. Geringe Spuren von Soda, soweit sie für die Löslichkeit von Agglutinin notwendig sein können, können Agglutination bedingen, während wenig höhere Mengen auch bei Anwesenheit von genügend NaCl eine positive Agglutination negativ machen können, denn saure Salze begünstigen in gewisser Weise das Zustandekommen einer positiven Agglutination, alkalische Reaktion verhindert sie. Dies ist abhängig von den H- und OH-Ionenkonzentrationen, die in dem betreffenden Gemisch vorliegen; man kann also die Wirkung von Neutralsalzen nicht mit alkalisch oder sauer reagierenden Salzen in Parallele setzen.

Aus dem Angeführten ist ersichtlich, daß nach dem heutigen Stand unserer Kenntnisse aus der Verwendbarkeit anderer Salze für das Zustandekommen der Agglutination wenig Vorteil zu ziehen ist; die Verhältnisse sind viel zu unübersichtlich, um vorläufig auf diesem Wege zu einer tieferen Erkenntnis vom Wesen der Agglutination zu gelangen.

Zusammenfassung.

Nach unseren durch neue Versuche begründeten Ausführungen muß man bei dem Studium der Frage, welche Bedeutung die Salze für die spezifische Agglutination haben, die Tatsache in den Vordergrund stellen, daß das Agglutinin kein einheitlicher Körper ist, sondern verschiedenen Eiweißfraktionen des Serums angehört, die auch gemäß ihrer chemischen und physikalischen Differenz beim Vorgang der Agglutination verschieden reagieren.

Um untersuchen zu können, wie die Agglutination oder auch nur ein Teil derselben: die Bindung von Agglutinin und agglutinabler Substanz, in salzfreiem Medium verläuft, muß man darauf Rücksicht nehmen, daß ein Teil des Agglutinins (I), der den wasserunlöslichen Eu- und Pseudoglobulinen zuzurechnen ist, in salzfreiem Medium ungelöst bleibt und hier deshalb für die Agglutination nicht in Frage kommt, worauf frühere Untersucher nicht geachtet haben.

Für diesen Agglutininanteil spielt das Salz nur die Rolle, das Eiweiß in Lösung zu halten, und kann ebensogut durch Spuren von Soda ersetzt werden.

Die Beziehung der Salze zum Phänomen der Agglutination ist damit aber nicht erschöpft: bei quantitativer Analyse der Erscheinungen zeigte sich, daß ein Teil des Agglutinins, der den Albuminen zuzurechnen ist, in vollkommen salzfreiem Medium Agglutination hervorrufen kann. Dieser Agglutininanteil (II) scheint inkonstant oder immerhin nur in geringen Quanten vorhanden zu sein.

Für den Rest der Agglutinine scheint das Salz hauptsächlich die Rolle zu spielen, daß die sensibilisierten Bakterien gegenüber Neutralsalzen leichter ausflockbar werden analog den Tonsuspensionen Bordets.

Eine Trennung des Vorganges der Agglutination in zwei Phasen: erstens die Bindung von Agglutinin und agglutinabler Substanz, die in salzfreiem Medium verlaufen kann, und zweitens die Flockung durch das Salz — läßt sich nach unseren Versuchen nicht mehr aufrechterhalten.

Der Beweis für die Bindung des (gesamten) Agglutinins an die agglutinable Substanz in salzfreiem Medium kann nach unseren Versuchen nicht mehr als stichhaltig angesehen werden.

Die Salze spielen daher für die verschiedenen Agglutininanteile eine verschiedene Rolle: für Agglutinin I sind sie nötig, um diesen Anteil überhaupt in Lösung zu halten, für Agglutinin II sind sie vollkommen bedeutungslos, für den Bestandteil III haben sie wahrscheinlich nur die Bedeutung eines akzessorischen physikalischen Vorganges, der die Flockung begünstigt, ohne für das Zustandekommen des Phänomens unbedingt notwendig zu sein.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 4527

Zeitschrift

für

Immunitätsforschung

und experimentelle Therapie

I. Teil: Originale

Unter Mitwirkung von

M. Ascoli, Catania, **V. Babes**, Bukarest, **O. Bail**, Prag, **E. F. Bashford**, London, **E. v. Behring**, Marburg, **S. Belfanti**, Mailand, **A. Besredka**, Paris, **J. Bordet**, Brüssel, **A. Breinl**, Liverpool, **L. Brieger**, Berlin, **A. Calmette**, Lille, **A. Dieudonné**, München, **R. Doerr**, Wien, **M. Dorset**, Washington, **E. v. Dungern**, Heidelberg, **S. Flexner**, New York, **U. Friedemann**, Berlin, **P. Frosch**, Berlin, **G. Gaffky**, Berlin, **M. von Gruber**, München, **M. Hahn**, Freiburg i. Br., **A. Heffter**, Berlin, **L. Hektoen**, Chicago, **M. Jacoby**, Berlin, **C. O. Jensen**, Kopenhagen, **S. Kitasato**, Tokio, **W. Kolle**, Bern, **W. Kruse**, Leipzig, **K. Landsteiner**, Wien, **C. Levaditi**, Paris, **L. von Liebermann**, Budapest, **Th. Madsen**, Kopenhagen, **C. J. Martin**, London, **E. Metschnikoff**, Paris, **L. Michaelis**, Berlin, **R. Muir**, Glasgow, **C. Moreschi**, Pavia, **P. Th. Müller**, Graz, **M. Neisser**, Frankfurt a. M., **F. Neufeld**, Berlin, **F. Nuttall**, Cambridge, **R. v. Ostertag**, Berlin, **R. Paltauf**, Wien, **A. Pettersson**, Stockholm, **R. Pfeiffer**, Breslau, **E. P. Pick**, Wien, **P. Römer**, Halle a. S., **C. J. Salomonsen**, Kopenhagen, **A. Schattenfroh**, Wien, **Cl. Schilling**, Berlin, **Th. Smith**, Boston, **G. Sobernheim**, Berlin, **V. C. Vaughan**, Ann Arbor, **A. v. Wassermann**, Berlin, **W. Weichardt**, Erlangen, **A. Wladimiroff**, St. Petersburg, **A. E. Wright**, London, **D. Zabolotny**, St. Petersburg

herausgegeben von:

E. FRIEDBERGER (Greifswald.) **R. KRAUS** (Buenos Aires.) **H. SACHS** (Frankfurt a. M.) **P. UHLENHUTH** (Straßburg i. E.)

24. Band, Heft 6.



Jena
Verlag von Gustav Fischer
1916

Ausgegeben am 8. Juni 1916.

Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exp. Therapie. I: Orig. Bd. 24. Heft 6.

Inhalt:

Die Abteilung **„Originale"** der **„Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie"** erscheint in zwangloser Folge. Der Preis für den Band beträgt 18 M.

Die Arbeiten werden mit dem Eingangsdatum versehen; sie sollen möglichst rasch und stets auf einmal, nie in Fortsetzungen zum Abdruck gelangen. Die Drucklegung erfolgt streng chronologisch nach dem Eingang bei der Redaktion. Für eine Veröffentlichung in gleicher Reihenfolge kann jedoch nur dann Gewähr geleistet werden, wenn die Korrektur seitens des Herrn Autors innerhalb 3 Tagen erledigt wird.

Das Mitarbeiter-Honorar beträgt 40 M. für den Bogen. Die Herren Mitarbeiter erhalten 50 Sonderabdrücke ihrer Arbeiten kostenlos.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Paul Ehrlich.

Eine Darstellung seines wissenschaftlichen Wirkens.

Festschrift zum 60. Geburtstage des Forschers (14. März 1914).

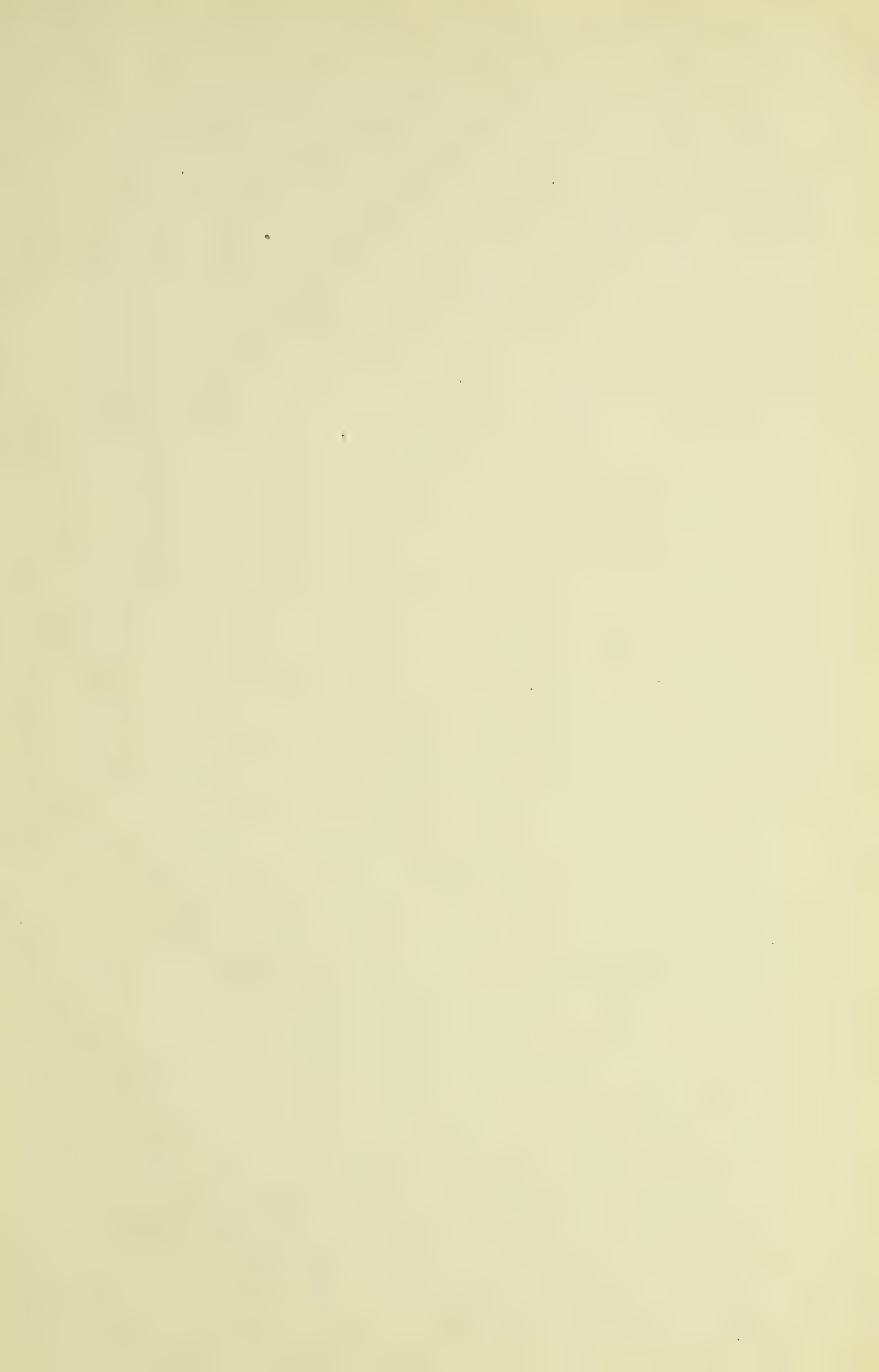
Mit 1 Bildnis.

1914. (VIII, 668 S. gr. 8°.)

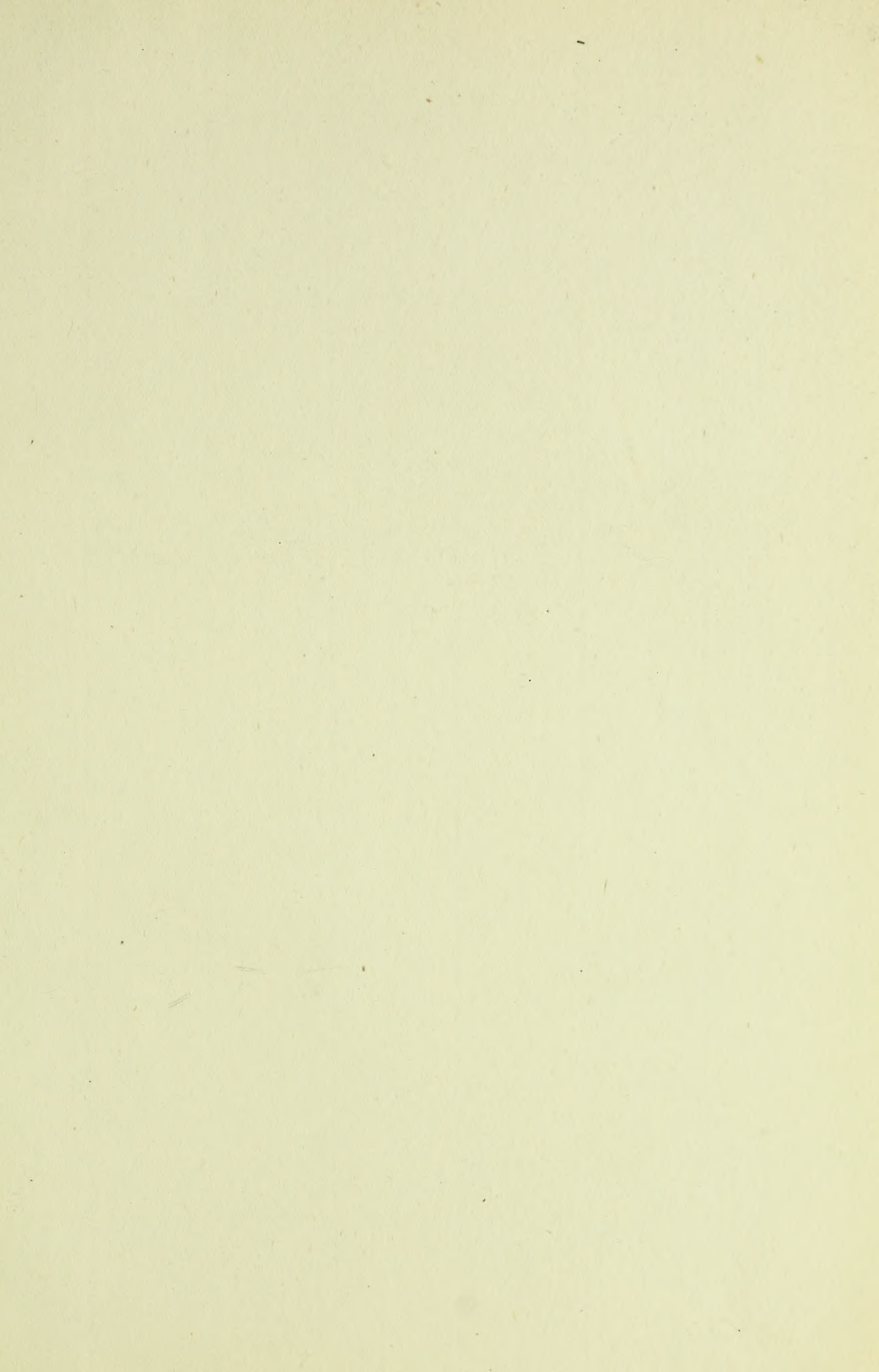
Preis: 16 Mark, geb. 17 Mark 20 Pf.

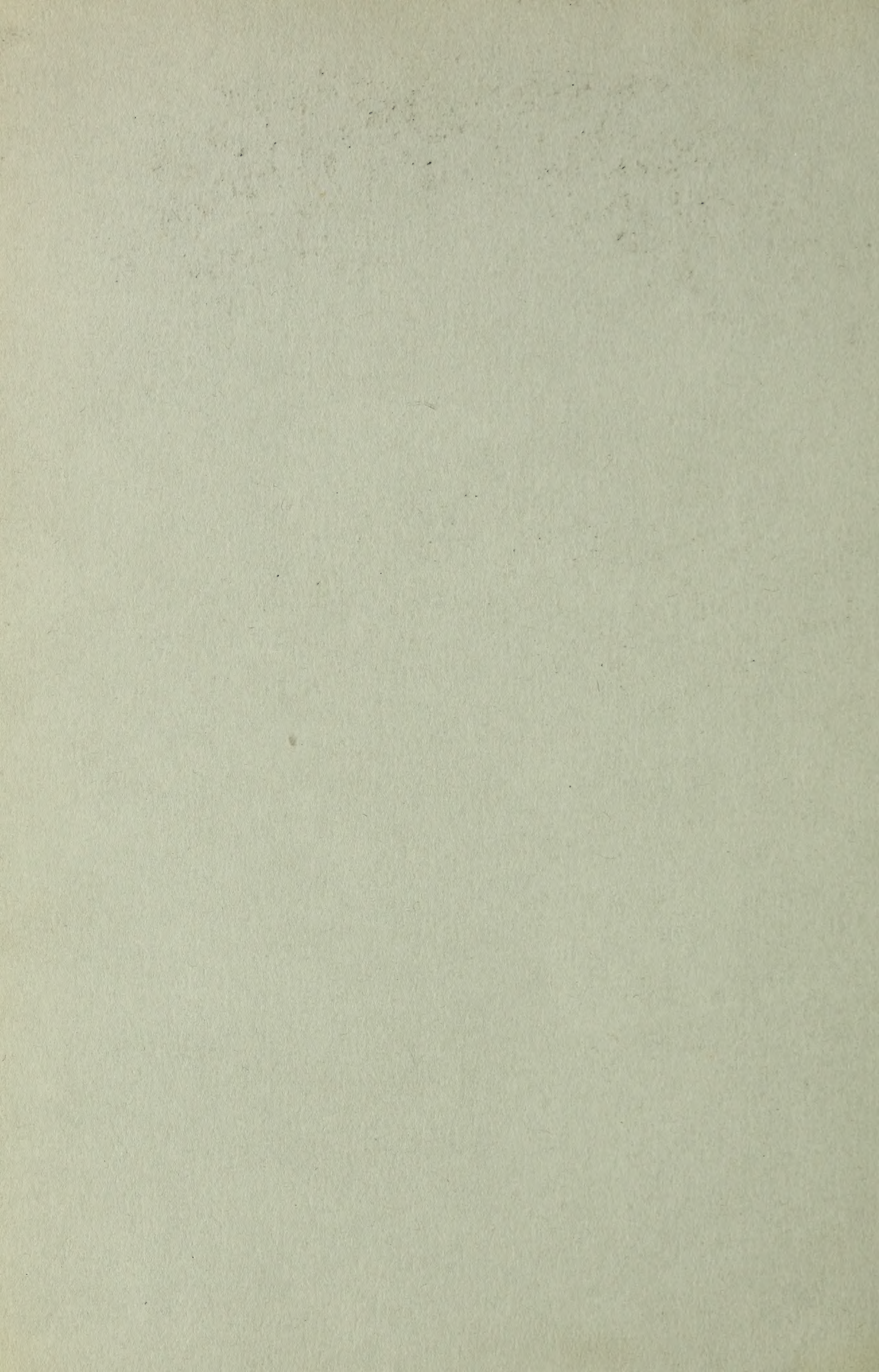
Inhalt:

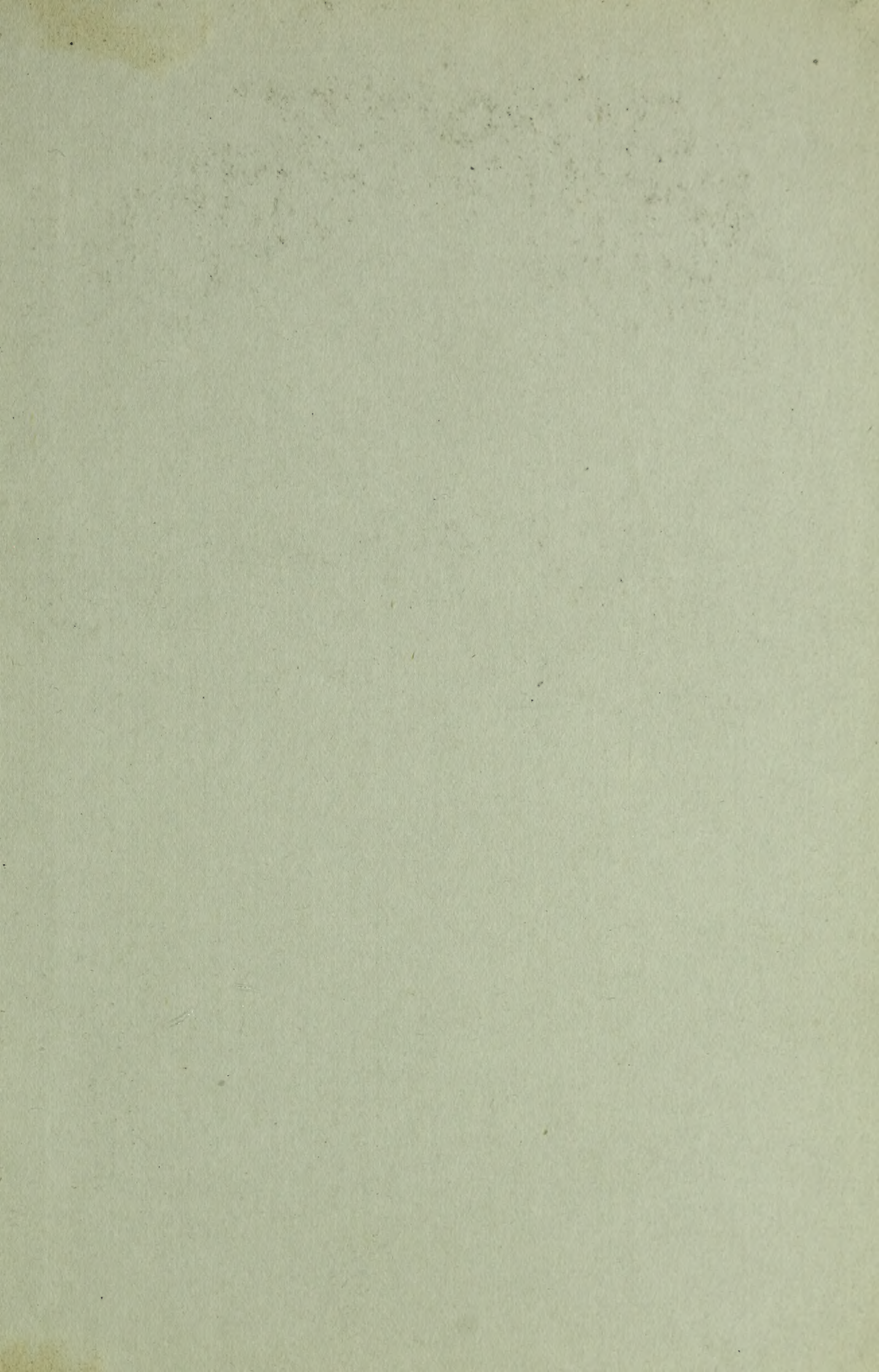
Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

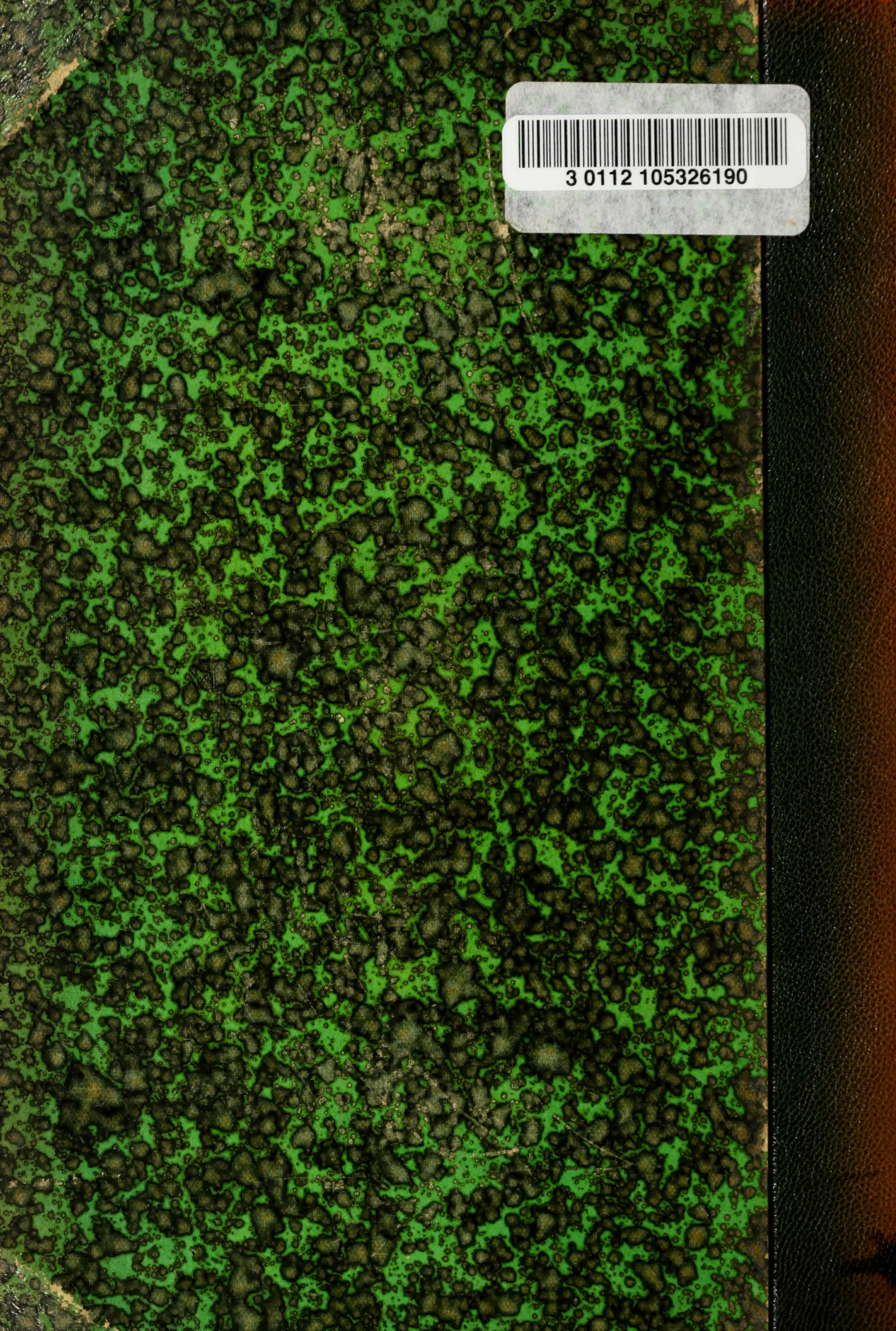











3 0112 105326190